

DAS VERHALTEN VON HITZEDENATURIERTEM HOMOLOGEN
ALBUMIN UND GAMMAGLOBULIN
IM RATTENORGANISMUS

VON
ULRICH DEHN

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554812_0072

Aus der 1. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. R. Duesberg

DAS VERHALTEN VON HITZEDENATURIERTEM HOMOLOGEN
ALBUMIN UND GAMMAGLOBULIN
IM RATTENORGANISMUS

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

ULRICH DEHN

aus Oldenburg i. O.

MAINZ 1967

Dekan: Prof. Dr. Diethelm
Referent: Priv. Doz. Dr. F. Gramlich
Korreferent: Prof. Dr. R. Duesberg
Tag der mündlichen Prüfung: 15. Juli 1967



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung und Grundlagen	1
1. Problemstellung	1
2. Allgemeines	2
a) Albumin	2
b) Gammaglobulin	2
3. Proteinstruktur	3
a) Albumin	3
b) Gammaglobulin	3
4. Denaturierung	5
5. Proteinmarkierung mit Isotopen	6
6. Eiweißabbau	7
a) Albumin	7
b) Gammaglobulin	10
c) Zusammenfassung	12
B. Material und Methodik	13
1. Proteindarstellung	13
2. J-131-Markierung	13
3. Denaturierung	14
4. Versuchsanordnung	15
5. Auswertung der Meßergebnisse	16
C. Eigene Untersuchungen	17
1. Übersicht	17
2. Ergebnisse	19
a) Albumin	19
b) Gammaglobulin	25
c) Anteil des freien Jod-131 im Serum	31
D. Diskussion	32
E. Zusammenfassung	37
F. Literaturverzeichnis	40
G. Anhang (Abbildungen 1-8)	

A. EINLEITUNG UND GRUNDLAGEN

1. PROBLEMSTELLUNG

In den letzten Jahren wurden zahlreiche neue Erkenntnisse über die Physiologie und Pathophysiologie der Bluteiweißkörper gewonnen. Über die Regulations- und Eliminationsmechanismen der Serumproteine ist bis jetzt aber noch recht wenig bekannt geworden. Umsatzbestimmungen mit rein dargestellten Serumproteinen lassen zwar erkennen, daß die einzelnen Proteinbestandteile des Blutes bezüglich Aufbau und Abbau einer spezifischen Eigengesetzlichkeit folgen, doch steht die Forschung hier erst am Anfang.

Fibrinogen z. B. wird in der Leber gebildet und als Fibrin bei Gerinnungsvorgängen und bei entzündlichen Prozessen aus dem Blutkreislauf entfernt. Haptoglobin, ebenfalls aus der Leber stammend, bildet mit Hämoglobin, welches durch Hämolyse frei geworden ist, einen Komplex, der als solcher wohl vom RES aufgenommen wird.

Albumin, ein weiteres Produkt der Leber, erfüllt als Transportform des Korpereiweißes schlechthin in erster Linie nutritive Aufgaben. Gammaglobulin dagegen wird in bestimmten Zellen des lymphoplasmocytären Systems aufgebaut und zumindest zum Teil als Antigen-Antikörper-Komplex durch Zellen des RES dem Kreislauf entzogen (24, 49).

Albumin und Gammaglobulin insbesondere verhalten sich, wie immer wieder gezeigt wurde, nicht nur hinsichtlich des Ortes ihrer Entstehung, sondern auch bezüglich physiko-chemischer Eigenschaften und Funktionen konträr. Gammaglobulin präzipitiert bei bestimmten Immunreaktionen, während vom Albumin dies nicht bekannt ist. Gegen Temperatureinwirkungen oder bei Aussalzverfahren erweist sich Gammaglobulin gemessen an der Präzipitationsfähigkeit wesentlich empfindlicher als Albumin.

Den Abbau dieser beiden Plasmaproteine zu verfolgen schien um so lohnender, als durch die Immunpräzipitation des Gammaglobulins ein möglicher Abbau-mechanismus von der Natur vorgezeichnet wird, der in Form der unspezifischen Hitzepräzipitation relativ leicht simuliert werden kann. Wir gingen dem differierenden Verhalten dieser beiden Proteine nach, indem wir aus Rattenserum natives und hitzedenaturiertes Albumin und Gammaglobulin darstellten und im homologen Versuch Tieren i. v. injizierten. Anschließend untersuchten wir den Abfall dieser Proteine im Serum und in verschiedenen Organen im Verlauf von 48 h beim Gammaglobulin und von 72 h beim Albumin.

2. ALLGEMEINES

Albumin und Gammaglobulin können auf verschiedene Art und Weise beschrieben werden; am gebräuchlichsten ist heute neben der elektrophoretischen die immunchemische Charakterisierung. Wir definieren - entsprechend der unten beschriebenen Darstellungsmethode - Albumin als die Fraktion, die im elektrischen Feld - abgesehen vom Präalbumin - am schnellsten wandert; Gammaglobulin entspricht der am langsamsten wandernden Fraktion in der Elektrophorese.

a) Albumin

Elektrophoretisch präpariertes Albumin kann als weitgehend identisch mit Albumin im immunchemischen Sinn angesehen und als eine einheitliche Fraktion betrachtet werden (14).

Albumin, das ca 50-60% aller Plasmaproteine ausmacht, ein relativ niedriges Molekulargewicht von 69 000 besitzt und beim pH-Wert des Blutes eine negative Ladung trägt, wird in der Leber synthetisiert. Es ist die zentrale Substanz und schlechthin die Transportform im Proteinstoffwechsel. Auf seinem großen Bindungsvermögen beruht seine Trägerfunktion für die Stoffwechselprodukte, anorganische und organische Ionen, Hormone, Vitamine und Pharmaka, die es an ihren Ausscheidungs- oder Wirkungsort bringt. Weiterhin ist das Albumin an der Konstanterhaltung des Blutvolumens und des onkotischen Druckes des Gefäß- und Kapillarsystems zu etwa 75% beteiligt. Es enthält keine prosthetischen KH-Gruppen und besteht ausschließlich aus Peptiden, die durch 16-17 S-S Bücken stabilisiert sind (24, 41).

b) Gammaglobulin

Immunochemisch versteht man unter Gammaglobulin wenigstens drei verschiedene Serumeiweiße, die sich bezüglich ihrer Antigenstruktur voneinander unterscheiden und elektrophoretisch die Gammaglobulinzacke bilden, teilweise aber auch den Betaglobulinen zugehören. Auf Grund ihrer Antigenstruktur werden das sogenannte Gamma-G-Globulin, das den Gammaglobulinpeak der Elektrophorese ausmacht, von den mit den Betaglobulinen wandernden Gamma-A- und Gamma-M-Globulinen unterschieden.

Gamma-G-Globulin entspricht in der früheren Nomenklatur dem Gamma-2- oder Gamma-SS-Globulin, Gamma-A- und Gamma-M-Globulin sind jeweils dem Beta-2-A- und dem Beta-2-M-Globulin synonym. Neuerdings sind immunelektrophoretisch noch Gamma-D- und Gamma-U-Globulin in

geringen Mengen im Serum nachgewiesen worden (50).

Da sämtliche Komponenten des Gammaglobulinsystems Antikörpereigenschaften besitzen, werden sie auch unter dem Begriff der "Immunglobuline" zusammengefaßt. Außerhalb des Gammaglobulinkomponentensystems sind bisher keine Serumeiweiße mit Antikörpercharakter bekannt. Es gilt als gesichert, daß den Immunglobulinen bzw. den humoralen Antikörpern bei der Infektabwehr des Organismus eine maßgebliche Bedeutung zukommt (3, 24, 41, 49).

3. PROTEINSTRUKTUR

Im folgenden soll kurz beschrieben werden, wie man sich den Aufbau der globulären Proteine, denen Albumin und Gammaglobulin zugeordnet werden, vorstellt.

Die Proteine setzen sich aus alpha-Aminosäuren zusammen, deren Sequenz in einer Peptidkette als Primärstruktur bezeichnet wird. Durch Bildung von intermolekularen H-Brückenbildungen kommt es zur Ausbildung der alpha-Helix oder Sekundärstruktur. Die alpha-Helix bildet nun ein knäuelartiges Gebilde, die Tertiärstruktur, welche durch H-Bindungen, Salzbrücken und Disulfidbindungen stabilisiert wird.

a) Albumin

Es wurde festgestellt, daß das Albumin aus einer einzigen, nur aus Aminosäuren bestehenden Polypeptidkette besteht (41).

Eine funktionelle Beschreibung des Albuminmoleküls beruht auf seiner hohen Bindungsfähigkeit. Diese wird zurückgeführt auf reversible Strukturveränderungen, die durch Aufklappen von vier gleichartigen Molekülschichten bei saurem pH und Zuklappen bei alkalischer Reaktion erklärt werden. In gewissen Maschen der Proteinstruktur könnten hauptsächlich hydrophobe Substanzen festgehalten werden, die nach dem Massenwirkungsgesetz gebunden werden (24).

b) Gammaglobulin

Zwar ist heute mit genügender Sicherheit geklärt, daß die Immunglobuline in Plasmazellen und ihnen nahestehenden Zellen des RES gebildet werden. Der Mechanismus der Antikörpersynthese aber ist noch weitgehend unklar. Die Theorien der AK-Bildung nach EHRlich und BURNET fordern nicht not-

wendigerweise eine festgelegte Struktur des Gammaglobulins, während die ursprüngliche Theorie nach PAULING besagt, daß bei einer genetisch festgelegten Aminosäuresequenz die Tertiärstruktur entsprechend der komplementären Struktur des Antigens geformt wird. HAUROWITZ nimmt an, daß das Antigen die Synthese der Primärstruktur beeinflusst, so daß Antikörper verschiedener Spezifität unterschiedliche AS-Sequenzen aufweisen würden (50). Bei chemischer Analyse konnte Kaninchengammaglobulin durch Papainisierung zunächst in drei verschiedene Bruchstücke getrennt werden. Zu analogen Ergebnissen gelangte man auch mit Humangammaglobulin (37). Später wurde gefunden, daß das Gammaglobulinmolekül aus zwei L-Ketten vom Molekulargewicht (MG) 20 000 und zwei H-Ketten vom MG 50000 besteht. Die durch Papain gewonnenen Fragmente sind nicht mit diesen Ketten identisch, lassen sich aber anhand eines Modells als leicht abtrennbare Bruchstücke erklären. Von den L-Ketten gibt es zwei verschiedene Typen, die mit Kappa (κ) und Lambda (λ) bezeichnet werden. Sie unterscheiden sich immunologisch, und deshalb wird ihnen eine besondere Bedeutung für die Antikörperspezifität beigemessen. Sie sind für die Verwandtschaft zwischen den Immunglobulinen verantwortlich, die sich z.B. durch Kreuzreaktionen nach der OUCHTERLONY-Technik nachweisen läßt.

Die H-Ketten sind für jede Globulinklasse spezifisch, so daß man für das Gamma-G-Globulin eine Gamma-, für das Gamma-A-Globulin eine Alpha-, für das Gamma-M-Globulin eine My- und für das Gamma-D-Globulin eine Delta-Kette unterscheidet. Das Gamma-U-Globulin, dem auch der BENCE-JONES'sche Eiweißkörper zugeordnet wird, besteht wahrscheinlich nur aus zwei L-Ketten. Ein einzelnes Gammaglobulinmolekül besteht aus zwei gleichen L- und zwei gleichen H-Ketten, so z.B. das Gamma-G-Globulin aus zwei Kappa-Ketten und zwei Gamma-Ketten oder aus zwei Lambda- und zwei Gamma-Ketten. Die vier Ketten sind miteinander über drei Disulfidbrücken verbunden (50).

Schon früher stellte man fest, daß das Gamma-M-Molekül (oder Beta-2-M) sich aus sechs monomeren Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von etwa 150 000 zusammensetzt, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Durch Auflösen dieser S-S-Brücken etwa mit Cysteamin kann eine Dissoziation des Makroglobulins in seine Untereinheiten erreicht werden, die partielle Antigengemeinschaft mit Gamma-G-Globulin haben, aber nicht mit diesem identisch sind, zumal ihr KII-Anteil mit 10,4% wesentlich höher als der des Gamma-G-Globulins ist (24). Dieser Befund läßt sich zwanglos in die beschriebene Theorie einordnen, wenn man jede dieser sechs Untereinheiten als nach dem oben angegebenen Schema aufgebaute Moleküle betrachtet, welche zu sechst ein Aggregat bilden (50).

4. DENATURIERUNG

Denaturierungsmodalitäten, Nachweismethoden der Denaturierung und Inaktivierungserscheinungen der Proteine sind heute schon derart vielfältig bekannt, daß auf andere Arbeiten verwiesen werden muß (35).

Wir gehen hier lediglich speziell auf die Hitzedenaturierung ein, da es einen allgemein gültigen Denaturierungsmechanismus offensichtlich nicht gibt (35). Anschließend werden einige Denaturierungserscheinungen des Albumins und des Gammaglobulins beschrieben.

Die thermische Denaturierung verläuft bei hoher Temperatur meist "verschmiert", bei niedriger Temperatur schrittweise und kann dann noch reversibel sein. Bei der schrittweisen Denaturierung scheinen sich zunächst nur Wasserstoffbrückenbindungen zu lösen. Nach Ruptur einer kritischen Zahl von H-Brücken und S-S-Bindungen können sich die Helixketten der Sekundärstruktur relativ frei bewegen. Es folgt eine Hydratation der aufgebrochenen Bindungen und damit eine Ausdehnung des Moleküls. Änderungen in der Bindung von Ionen als Folge elektrostatischer Vorgänge in den frei beweglich gewordenen Peptidketten lassen eine Aggregationsneigung erkennen. Durch Neuknüpfung von H-Brücken und S-S-Bindungen nach Art eines Reißverschlußmechanismus können sich Proteine der verschiedensten Herkunft zusammenschließen, wobei man annehmen muß, daß die Knüpfung von S-S-Brücken nach erfolgter Erhitzung einige Zeit weiterläuft. Es ist noch keineswegs klar, ob sich nun globuläre oder fadenförmige Aggregate bilden. Am Ende der Denaturierung steht Koagulation und Gelbildung. Denaturierung läßt sich daher allgemein als Änderung der Konformation oder Konstellation der Peptidketten des nativen Proteins definieren (21, 35).

Die Denaturierung verändert die biologische Aktivität eines Proteins; nach starker Denaturierung geht die spezifische Funktion durchweg verloren, aber nach schonender Denaturierung, z.B. durch Alkali, kann die Antigenität erhalten bleiben (11, 31).

Bei der Herstellung i. v. injizierbarer Gammaglobulinpräparate fiel die erhöhte Komplementbindungsfähigkeit als Ursache verschiedener Unverträglichkeitserscheinungen aggregierter und besonders wärmedenaturierter Chargen auf (3, 42).

Elektrophoretische Messungen an erhitztem Serum ergaben, daß die Beweglichkeit des Gammaglobulins bei 58° größer wird, jedoch bei 70° erloschen ist. Die Wanderungsgeschwindigkeit des Albumins verringert sich bei 62° und fällt bei 66° mit der der übrigen Globuline zusammen (28).

Elektrophoretische Untersuchungen an isoliertem Albumin zeigten, daß nach

Erhitzung ab 60° die ersten Alterationen an Albuminmolekül auftreten und die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit mit steigendem Denaturierungsgrad geringer wird, die Ladung des Moleküls also positiver wird. Ab 65° treten Tetrameren (Nachweis durch Sedimentationsbestimmungen) auf und ab 85° eine starke Polydispersität. Bis 60° war die Denaturierung noch reversibel (43). Bei Untersuchungen, in denen die proteolytische Wirkung des Trypsins auf hitzedenaturiertes Serum, Albumin und Gammaglobulin festgestellt wurde, ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen Albumin und Gammaglobulin, außer, daß schon ab 70° Gammaglobulin präzipitiert. Der Autor nimmt an, daß in vivo Trypsin zur Identifizierung intermediärer Stoffwechselprodukte gebraucht wird (27, 29).

Eine neuere Arbeit befaßt sich mit der Adsorbierbarkeit von Proteinen an Grenzflächen in Abhängigkeit von ihrer Denaturierung; das Ausmaß der Adsorption hitzedenaturierter Proteine wurde proportional der Denaturierungsstärke gefunden (35).

5. PROTEINMARKIERUNG MIT ISOTOPEN

Für Proteinstoffwechseluntersuchungen hat sich als elegante Methode die Markierung der Proteine mit radioaktiven Isotopen erwiesen. Am häufigsten verwendet werden für diese Zwecke S-35, N-15 und C-14 zur inneren und J-131 zur äußeren Proteinmarkierung (22). Die J-131 Markierung hat sich durch ihre einfache Handhabung - und bei Verwendung schonender Methoden - geringe Fehlerbreite bewährt, zumal im Gegensatz zu den im Eiweiß natürlich vorkommenden Elementen die Neuverwendung von J-131 zur Proteinsynthese und damit ein innerer Kreislauf der Markierungssubstanz so gut wie ausgeschlossen werden kann (8, 14). Vergleichende Untersuchungen zwischen biosynthetisch mit C-14 markierten Proteinen und mit J-131 markierten Proteinen (12, 32) und doppelt mit J-131 und C-14 markierten Proteinen (22) ergaben, daß biosynthetisch markierte und mit J-131 markierte im wesentlichen übereinstimmende Werte liefern und daß das iodierte Protein vom Organismus nicht selektiert wird (32, 45).

Zweifellos wird bei einem zu hohen Jodangebot das Protein denaturiert, aber zwei Jodmoleküle/Proteinmolekül rufen - substituiert im Tyrosinring - keine feststellbaren Alterationen des Proteins hervor (32).

Aus der Höhe der Jodausscheidung im Harn läßt sich sehr einfach die Abbaurate eines Proteins bestimmen, wenn man die Aufnahme von Jod in die Schilddrüse durch vorherige Gabe von Lugolscher Lösung verhindert (12, 33).

6. EIWEISSABBAU

Ganz allgemein läßt sich sagen, daß der Abbau eines Proteins seiner Synthese im Sinne eines Gleichgewichtes entsprechen muß, damit die Eiweißbilanz ausgeglichen ist (24, 33). Welcher der beiden Faktoren - Synthese oder Abbau - als Regelgröße anzusehen ist, wird verschieden beurteilt (24, 38). Es stellt sich jedenfalls die Frage nach der Auswahl der Serumeiweißmoleküle, welche dem Abbau verfallen, wobei es theoretisch zwei gegensätzliche Möglichkeiten gibt:

1. Es werden die nach einer gewissen Zeit durch ihr Alter veränderten Moleküle abgebaut. Das Alter der zirkulierenden Moleküle würde sich dann in festgelegten Grenzen bewegen.
2. Von jeder Serumproteinart wird wahllos ein bestimmter Prozentsatz der zirkulierenden Moleküle abgebaut. Dadurch würde sich eine breite Streuung des Molekülalters ergeben.

Da es noch keine Möglichkeiten gibt, Veränderungen eines Eiweißmoleküls durch Alter festzustellen, konnte bisher keine der beiden Hypothesen bewiesen werden (49).

a) Albumin

Der Plasmaalbuminspiegel wird nach einer Hypothese durch vermehrten oder verminderten Abbau reguliert, wobei vorausgesetzt wird, daß die Syntheseleistung konstant bleibt (33). Von anderer Seite wird angenommen, daß die Albuminabbaurate von einem extravasculären proteolytischen System bestimmt wird, dessen Kapazität vom Körpergewicht abhängt. Die Syntheserate ist nicht ausschlaggebend, aber konstant (38). Wenn man nämlich die Abbaurate des Albumins auf das Körpergewicht bezieht, so ergibt sich eine Korrelation, nach der mit steigendem Körpergewicht mehr Albumin abgebaut wird. Dies gilt nicht nur für eine, sondern auch für verschiedene Spezies in gleicher Weise (1, 38).

Die Halbwertszeit für Albumin dürfte für den Menschen bei 15-18 Tagen liegen (5, 8, 45), für die Ratte zwischen 1,9 - 3,7 Tagen (25, 47). Diese Angaben streuen je nach angewandter Methode beim Menschen sogar von 10-60 Tagen (41). Die Halbwertszeit hängt wesentlich von der Präparationsmethode ab: mit Ammoniumsulfat gefälltes Protein hat eine längere Halbwertszeit als durch Äthanol fraktioniertes (32, 47).

Heterologes Protein wird im allgemeinen schneller als homologes Protein ausgeschieden (18, 47). Intraperitoneal gegebenes heterologes Albumin ist in

Ratten nach 4 Tagen in körpereigenes Protein umgebaut (39), wobei man annehmen muß, daß das Albumin bis auf die Aminosäurestufe abgebaut wird und in dieser Form für den Zellproteinaufbau verwendet wird (22).

Untersuchungen am Menschen mit J-131 markiertem Albumin ergaben, daß 60% des zwischen extra- und intravasculärem Pool austauschbaren Albumins extravasculär vorhanden sind (40). Die Zeit, in der intravenös zugeführtes Albumin sich mit dem extravasculären Pool ins Gleichgewicht gesetzt hat, beträgt nach übereinstimmenden Angaben 4-7 Tage (7, 40); eine vollständige Vermengung des injizierten Proteins im Kreislaufsystem findet schon nach 5-10 min. statt, wobei die geringfügigen extravasculären Räume der gut-durchbluteten Organe (Herz, Leber, Niere, Milz) mitbeteiligt sind (8). In Lunge, Muskulatur und anderen Geweben steigt der Albumingehalt erst einige Tage später (8).

Bis vor kurzem wurde noch angenommen, daß die Serumproteine größtenteils in der Leber abgebaut würden (36), aber es kann heute als erwiesen gelten, daß allein vom Albumin höchstens 50%, wahrscheinlich nur 25% in der Leber abgebaut werden, wie Untersuchungen an hepatektomierten Ratten und Durchspülungsversuche an isolierten Rattenlebern vermuten lassen (26), während nach anderen Autoren sogar nur 15% des Albumins in der Leber abgebaut werden sollen (13, 19). In der Milz wird normalerweise kein Albumin abgebaut, wie Untersuchungen an splenektomierten Ratten zeigten (26). Wenn man jedoch das RES mit Tusche blockiert, wird die Abbaurate nativer Albumine - wahrscheinlich infolge eines Reizzustandes des RES - bis zu 40% erhöht (18).

Eine weitere Möglichkeit ergibt sich, wenn man den Albuminabbau in der Niere lokalisiert. Das Albumin würde neben anderen Proteinen durch die Glomerulummembran filtriert, aus dem Primärharn praktisch vollständig wieder rückresorbiert und im Tubulus abgebaut werden. An Berechnungen wird gezeigt, daß auf diese Weise der gesamte Albuminabbau beim Menschen vonstatten gehen könnte (24). Befunde an nephrektomierten Ratten widersprechen allerdings dieser Anschauung (26).

Wenn Gesunden mit J-131 markiertes Albumin injiziert wird, beträgt die Urinaktivität nach Abschluß des Initialabfalls einen konstanten Bruchteil der Plasmaaktivität, nämlich 8%. Es wird daher vermutet, daß der Albumin-katabolismus in naher Beziehung zum intravasculärem Proteinspiegel steht (34). Dieser konstante Bruchteil von 8% würde einer täglichen Abbaquote von 12-14 g Albumin entsprechen (33).

Modellversuche mit Polyvinylpyrrolidin zeigten, daß es bei verschiedenen Krankheitsformen ebenso wie Albumin in den Magen-Darmkanal vermehrt

austritt. Da diese Substanz zwar einige Eigenschaften mit Albumin gemeinsam hat, so die kolloidosmotische Wirksamkeit, im Magen-Darmtrakt aber nicht fermentativ abgebaut werden kann, konnte es auch im Stuhl von Gesunden nachgewiesen werden (26, 24). Übereinstimmend wird von mehreren Autoren die in den Magen-Darmtrakt ausgeschiedene Albuminmenge mit 8-9 g/die angegeben (49), wobei je 4 g auf den Magen und das Jejunum entfallen (48). Von anderer Seite wird vermutet, daß nur 20% (entsprechend 2-3 g) des gesamten Albuminabbaues auf den Magen-Darmtrakt und ca 30% auf die Leber entfallen. Das in den Darm ausgeschiedene Albumin würde dann der Verdauung durch die eigenen Fermente anheimfallen und in Form der Aminosäuren wieder resorbiert werden. Der Rest von 50% soll außerhalb der visceralen Körperteile katabolisiert werden (26).

Ein wesentlicher Abbau in Muskulatur und Haut kann nicht angenommen werden (23, 26), wenn auch Haut und Muskulatur insgesamt die Hälfte des extravasculären, austauschbaren Albumins enthalten (40). Lunge und Lymphknoten bieten ebenfalls, wie sich mit S-35 markiertem Albumin in Ratten zeigte, keinen Anhalt dafür, daß in ihnen wesentliche Abbauvorgänge stattfinden (23).

Bei der Untersuchung hitzedenaturierten Albumins ergab sich, daß es schneller als natives Albumin aus dem Kreislauf eliminiert wird (17, 45). Die denaturierende Wirkung verschiedener Präparationsmethoden (7, 32, 47) und der Markierung mit J-131 (12, 17, 32, 45) wurde beschrieben. Dabei stellte sich heraus, daß sich Denaturierung durch Hitze und durch J-131-Markierung nicht entsprechen; vielmehr kann man annehmen, daß es zwei verschiedene in-vivo Abbaumechanismen gibt, denen derart alterierte Proteine verfallen (17).

Mit Anstieg der Denaturierungstemperatur fand man das Albumin vermehrt in der Leber und in entsprechendem Maße vermindert im Serum (30). In der isolierten, perfundierten Rattenleber wurde hitzedenaturiertes (80°) bovines Serumalbumin 2-5 mal schneller abgebaut als natives Albumin (13). 8-15 min. nach Perfusion von grob denaturiertem Humanalbumin waren 75% des perfundierten Albumins von der Rattenleber aufgenommen, während von nativem Albumin nur 1, 5% nachzuweisen waren (17).

Nach Injektion von heterologem, auf verschiedene Weisen denaturiertem Albumin zeigte sich, daß durch Säure, Alkali und Harnstoff denaturiertes Albumin schnellstens durch die Niere ausgeschieden wird. Dieser Befund betont die Abhängigkeit der Eiweißausscheidung durch die Niere von der Partikelgröße, da man annehmen darf, daß auf diese Weise denaturiertes Albumin

Albumin in kleinere Bruchstücke zerschlagen wird, welche die Glomerulummembran leichter passieren können (46).

Stark aggregiertes, hitzedenaturiertes Albumin wurde selektiv vom RES abgefangen (6, 46). Obwohl die Abbaurate denaturierten Albumins nach Injektion von kolloidalem Kohlenstoff vermindert werden konnte (9), wurde gleichzeitig der Abbau nativen Albumins um 40% erhöht (18).

b) Gammaglobulin

Für die Regulierung des Gammaglobulinspiegels wurde ein spezifischer, homeostatischer Mechanismus angenommen, bei dem die synthetisierte Proteinmenge der regulierende Faktor ist, welcher den Abbau beeinflusst (16). Ein Anstieg des Gammaglobulinspiegels durch Hyperimmunisierung oder Plasmazell-tumoren erhöhte die Abbaurate des Gammaglobulins, während Albumininjektionen und ein damit verbundener Anstieg des Albuminspiegels im Plasma keinen Einfluß auf den Gammaglobulinabbau hatten (11).

Nach Injektion von isoliertem Fragment III (nach PORTER) stieg die Abbaurate des Gammaglobulins ebenfalls, nicht jedoch nach Injektion von Fragment I und II. Es wird daher vermutet, daß der Abbaumechanismus des Gammaglobulins an dem immunspezifischen Molekülteil, dem Fragment III, angreift (16). Mäuse mit Plasmazelltumoren haben gleiche Gammaglobulinhalbwertszeiten wie Mäuse ohne solche Tumoren.

Daraus wird geschlossen, daß die Zahl der Plasmazellen auf die Halbwertszeit nicht unmittelbar einwirkt (16). Wenn man den Gammaglobulinspiegel auf die gleiche Höhe bringt wie den Albuminspiegel, so zeigt sich eine dem Albumin entsprechend sehr ähnliche Halbwertszeit. Pinocytoseprozesse werden für den Gammaglobulinkatabolismus als zu unspezifisch abgelehnt (man versteht unter Pinocytose Stoffaustauschvorgänge zwischen Zellen und extrazellulärer Flüssigkeit nach dem Prinzip der Phagocytose, wobei um die aufzunehmenden Stoffe eine aus der Zellmembran sich bildende Vakuole schließt, welche sich innerhalb der Zelle auflöst oder mit dem endoplasmatischen Retikulum in Verbindung tritt). Vielmehr wird ein Modell vorgeschlagen, bei dem zwei Gammaglobulinmoleküle gleichzeitig auf einen Abbaurezeptor treffen müssen, und dann erst abgebaut werden können. Trifft nur ein Molekül auf den Rezeptor, kann es sich wieder lösen oder wird erst gar nicht angenommen, jedenfalls wird es allein nicht abgebaut. Diese Vorstellung wird der Erscheinung gerecht, daß ein erhöhter Gammaglobulinspiegel mit einer höheren Abbaurate verbunden ist (16).

Eine andere Hypothese vereinigt Pinocytose und Rezeptormechanismus. Die Serumproteine werden durch Pinocytose in die Zellen aufgenommen. In der

Wand der Pinocytenbläschen oder an der Zelloberfläche sollen sich für Gammaglobulin spezifische Rezeptoren befinden, welche das Gammaglobulinmolekül binden und vor dem Abbau bewahren, während die anderen Proteine, für die es keine spezifischen Rezeptoren gibt, dem Abbau verfallen. Das Gammaglobulin wird wieder dem Kreislauf zugeführt. Irgendwelche Strukturveränderungen des Gammaglobulinmoleküls würden zu einem Verlust der Annahmefähigkeit durch den Rezeptor und damit zum Abbau führen (10).

Die Halbwertszeit von Gammaglobulin beträgt für die Ratte 5-5,5 Tage (25, 47), für den Menschen durchschnittlich 23 Tage (14, 44). Wie für das Albumin, differieren die Angaben je nach Präparations- und Markierungsmethode zwischen 7 bis 50 Tagen (41).

Bei Untersuchungen mit verschiedenartig hergestelltem Gammaglobulin zeigte sich, daß elektrophoretisch präpariertes Gammaglobulin Makroglobulinanteile enthält, welche in ihrem Verhalten vom übrigen Gammaglobulin abweichen. Das Makroglobulin wird schneller abgebaut und diffundiert fast gar nicht in einen extravasculären Pool. Chromatographisch dargestelltes Gammaglobulin ist in dieser Hinsicht als reine Fraktion zu bewerten (14).

Nach intraperitonealer Injektion von heterologem Gammaglobulin fand man in Ratten, daß das Gammaglobulin nach 4 Tagen zur Synthese von körpereigenem Protein verwandt worden war (4). Im allgemeinen wird heterologes Protein (Albumin und Gammaglobulin) schneller aus dem Organismus wieder ausgeschieden als homologes, allerdings macht Kaninchengammaglobulin darin eine Ausnahme, indem es in verschiedenen Spezies eine längere Halbwertszeit als homologes Gammaglobulin hat (47).

Aus Durchspülungsversuchen an isolierten Rattenlebern geht hervor, daß der Anteil des Abbaues von homologem Gammaglobulin in der Leber bei 30% liegt (15). Untersuchungen anderer Autoren an Hunden deuten darauf hin, daß Gammaglobulin zu 40% intestinal, zu 10% im Magen, zu ebenfalls 30% in der Leber und zu 20% durch immunologische Prozesse katabolisiert wird (2). Der Übertritt von Protein in den Darm konnte 2,5fach verstärkt werden, wenn man eine isolierte Darmschlinge mit hypertonischer $MgSO_4$ -Lösung durchspülte. Abklemmen der vena porta führte zu einem 2-16 mal stärkeren Proteinaustritt ins Darmlumen als unter normalen Bedingungen (2).

Auch findet man im Harn des Gesunden regelmäßig Gamma-A-Globulin, nicht dagegen Gamma-M-Globulin, was darauf hinzuweisen scheint, daß die unter physiologischen Bedingungen in den Harn ausgeschiedenen Proteine von der Porengröße der Glomerulummembran abhängig sind (24); primär werden anscheinend die kleinmolekularen Eiweiße selektiert, da die Glome-

rulummembran Proteine mit Molekulargewichten bis 68 000 ohne weiteres hindurchtreten läßt (36).

Nach intravenöser Injektion von Gammaglobulinpräparaten zeigen sich bei einigen Menschen Inkompatibilitätserscheinungen, die nach Wärmeaggregation der Präparate verstärkt auftreten (3, 42). Dieser Effekt beruht anscheinend auf der Aktivierung von Komplement, wird aber durch geeignete Desaggregation mit Pepsin (42) oder durch Säure (3) verhindert. Es gibt kein geeignetes Versuchstier, welches ähnlich wie der Mensch auf intravenöse Gammaglobulingaben mit Unverträglichkeitserscheinungen reagiert (3).

c) Zusammenfassung

Die hinsichtlich der vorliegenden Arbeit uns wichtig erscheinenden Untersuchungsergebnisse über Albumin und Globulin seien nochmals zusammengefaßt:

Albumin besteht aus einer einzigen Polypeptidkette mit einem Molekulargewicht von ca 69 000 (41), Gammaglobulin hingegen aus Polypeptidkettenaggregaten mit Molekulargewichten von 150 000 und Vielfachen davon (50). Bei Temperatureinwirkung bis zu 60° ist die Denaturierung von Albumin noch reversibel, ab 65° treten Tetrameren auf (43). Gammaglobulin präzipitiert ab 70° (27). Die Angaben über den Albuminabbau in der Leber differieren von 15-50% (13, 19, 26); im Gastrointestinaltrakt werden 20% (26), nach anderen Angaben 75% (48) vom Albumin abgebaut. Der Niere wird einerseits gar kein (26), andererseits ein großer Anteil (24) am Albuminkatabolismus zugesprochen. Hitzedenaturiertes Albumin wird schneller als natives Albumin dem Kreislauf entzogen (17, 45) und dabei selektiv vom RES abgefangen (6, 9, 46).

Natives Gammaglobulin soll zu 40% intestinal, zu 10% im Magen, zu 30% in der Leber und zu 20% durch immunologische Prozesse katabolisiert werden (2). Auch muß eine Nierenausscheidung angenommen werden (24). Hitzedenaturiertes Gammaglobulin ruft nach i. v. Gabe beim Menschen Unverträglichkeitserscheinungen hervor, deren Ursache einer Komplementaktivierung zugeschrieben wird (3, 42).

B. MATERIAL und METHODIK

1. PROTEINDARSTELLUNG

Von Ratten wurde mittels Herzpunktion eine ausreichende Menge Blut und daraus durch Zentrifugieren Serum (50-120 ml) gewonnen. Vertikalelektrophoretisch (20) (Fa. Beckmann, Modell CP) wurde aus dem Serum in folgender Weise Albumin und Gammaglobulin isoliert: Das Serum wurde mit der gleichen Menge Dole-Puffer (Veronalpuffer, Ionenstärke 0,02; pH 8,6) versetzt und in ein entsprechendes Durchlaufgefäß eingefüllt. Die Durchlaufgeschwindigkeit wurde auf 4 ml/h eingestellt. Als Spannung wurden zur Isolierung des Albumins 600 V (bei einer Ausgangsstromstärke von 15 mA), zur Isolierung des Gammaglobulins 800 V (20 mA) gewählt. Mit zunehmender Laufzeit ergab sich ein Anstieg der Stromstärke, und um die damit verbundene geringere Auftrennung und Verschiebung der Fraktionsbanden zur Anode hin zu verhindern, wurden alle 12-16 Stunden die Trennvorhänge ausgewechselt. Als Kontrolle bot sich dafür der Anstieg der Stromstärke an. Im ersteren Fall wurde bei Erreichen von 30 mA, im zweiten bei 40 mA der Vorhang gewechselt. Sowohl durch diese Maßnahme als auch durch Installation der Apparatur in einer Kühlkammer konnte die Temperaturentwicklung unter $+10^{\circ}$ gehalten werden. Die Trennvorhänge wurden getrocknet und mit Amidoschwarz 10 B gefärbt. Aus dieser Darstellung ließ sich die Trennschärfe der jeweiligen Auftrennung beurteilen und die Auswahl der einzelnen Fraktionen treffen. Die in Frage kommenden Fraktionen wurden auf ihren Eiweißgehalt (Biuret) untersucht und im Vakuum-Rotationsverdampfer (Fa. Büchi, Schweiz) bei $+37^{\circ}$ auf ca 3-4 g% eingestellt. Zur Prüfung auf grobe Verunreinigungen mit anderen Serumfraktionen wurde anschließend eine Papierelektrophorese in Horizontalanordnung (Michaelis-Puffer pH 8,6; Laufzeit 16 h) durchgeführt.

2. J-131- MARKIERUNG

Die Proteine wurden nach einer von McFARLANE (32) angegebenen, modifizierten Methode mit J-131 markiert. Die Proteinlösungen wurden im Jet mit einer NaJ-131-Lösung im Gegenstrom versetzt.

Der Jet besteht aus zwei Büretten, einer Sammel- und einer Mischbürette. Die Mischbürette ist in die Sammelbürette so eingelassen, daß unter gleichzeitigem Aufnehmen der Proteinlösung in die Sammelbürette die J-131-Lösung aus der Mischbürette unter Druck in die Proteinlösung gespritzt werden kann. Die jeweilige Druck- und Sogerzeugung geschieht durch zwei manuell betätigte Peleusbälle, die mit den Büretten in Verbindung stehen.

3 Teile Proteinlösung wurden mit zwei Teilen Glycinpuffer (pH 9,3) versetzt, eventuell unlöslich gewordenes Protein wurde abzentrifugiert. Dieses Protein-Puffergemisch wurde mit einem aus zwei Teilen NaJ-131, 1 Teil 0,1 n HJO₃ und 2 Teilen 0,01 n HCl gebildeten Jodierungsgemisch im Jet versetzt. Wir verwendeten J-131 als Jodid in isotonischer NaCl-Lösung (Fa. Buchler u. Co., Braunschweig) mit einer Aktivität von 10 mC. 15 min nach der Jodierung wurde auf das Gemisch 1 Teil 1 n Na₂ S₂O₃ gegeben, um das noch freie, molekulare Jod zu binden.

Die Entfernung des freien, nicht proteingebundenen J-131 wurde mit Hilfe eines Ionenaustauschers (Amberlite IR-45) vorgenommen. Das erhaltene Proteingemisch wurde auf eine 1,5 m lange Amberlitsäule (Ø 3 cm) gegeben, 12 h in der Kälte stehen gelassen und dann langsam, tropfenweise fraktioniert. Die Fraktionierung geschah mit dem LBK-Fraktionssammler RadiRac mit Ultraviolett-Durchflußphotometer UVICORD (Fa. LBK-Producter, Stockholm). Als Elutionsmittel wurde 0,9% NaCl verwendet.

Damit lagen die Proteine in annähernd physiologischer Lösung vor und konnten ohne weitere Aufbereitung zur Injektion verwendet werden. Wir erhielten 5 ml-Portionen, deren Auswahl dadurch erleichtert war, daß ihr relativer Proteingehalt durch das automatisch arbeitende Durchflußphotometer und den Zweifarbenpunktschreiber aufgezeichnet wurde. Diejenigen Fraktionen mit dem größten Proteingehalt wiesen auch immer die stärkste Aktivität auf, nach deren informatorischer Messung die eigentliche, endgültige Auswahl der brauchbaren Fraktionen getroffen wurde. Die Messung der Aktivitäten erfolgte in einem Szintillationszähler mit Bohrlochkristall der Fa. Frieske und Höpfner, Erlangen. Die geeigneten Fraktionen wurden gesammelt, die Gesamtaktivität pro ml, der Anteil des freien, nicht proteingebundenen J-131 (durch Eiweißfällung mit Trichloressigsäure) gemessen und die Proteinkonzentration (Biuret) bestimmt. Die Gesamtaktivität pro ml betrug 6,5 bis 8,5 x 10⁶ I/min, der Anteil des freien J-131 nie mehr als 1%. Die Proteinkonzentrationen betrugen 0,15 - 0,5 g%.

3. DENATURIERUNG

Die Denaturierung erfolgte durch Hitze im Wasserbad im Anschluß an die Fraktionierung. Albumin wurde bei 65° und bei 80°, Gammaglobulin bei 65° 30 min in gleichartigen Meßzylindern (Ø 1,5 cm) der Hitze ausgesetzt, anschließend wurden sie im Wasserbad auf Zimmertemperatur abgekühlt. Von jeder Charge wurde vorher eine Probedenaturierung vorgenommen, um einem eventuellen Verlust des Proteins durch Ausflockung vorbeugen zu können. Bei

80° denaturiertes Gammaglobulin ließ sich aus diesem Grunde nicht verwenden. Es erfolgte eine neuerliche Bestimmung der Gesamtaktivität und des prozentualen Anteils des freien J-131. Hinsichtlich der Gesamtaktivität ergaben sich keine Unterschiede zu den schon gemessenen Werten vor der Denaturierung, der prozentuale Anteil des freien J-131 stieg in Abhängigkeit von der Denaturierung bei 65° auf 3%, bei 80° auf 4% an.

4. VERSUCHSANORDNUNG

Wir injizierten Albinoratten jeweils eine auf das Körpergewicht bezogene Menge an Imp/min/ml J-131-Proteinlösung in die Schwanzvene und töteten die Tiere zu verschiedenen Zeiten. Untersucht wurden die einzelnen Organe auf ihre Aktivität. Die Chargenmenge und ihre Aktivität bestimmten die Gesamtzahl der Versuchstiere, die zeitliche Ausdehnung und die pro Zeitpunkt verwendete Tierzahl.

Nach Wiegen der Ratten (120-180 g) wurde die jeweilige Chargenmenge in ml festgesetzt. Wir bezogen auf 100 g Körpergewicht 10^6 Imp/min, so daß durchschnittlich 2 ml pro Ratte injiziert wurden. Diese Bezugsform erwies sich nach Durchführung eines Vorversuches, in dem je einer gleichschweren Ratte 5×10^6 , 10×10^6 , 15×10^6 und 20×10^6 Imp/min in einer nach der oben beschriebenen Methode hergestellten, nativen Albuminlösung injiziert wurden, hinsichtlich der Messgrößen als optimal. Die Injektion wurde in eine Schwanzvene vorgenommen, die vorher durch heißes Wasser erweitert worden war. Zu den jeweils festgesetzten Zeiten wurden die Tiere mit Äther bis zum Stillstand der Atmung betäubt, der Brustkorb eröffnet, das Herz punktiert und die Aorta descendens aufgesucht, in welche ein Polyäthylenkatheter entsprechenden Durchmessers eingebunden wurde. Jede Ratte wurde dann mit 500 ml 0,9% NaCl durchspült. Anschließend wurden Herz, Lunge, Milz, Nieren, Leber, Darm (immer ein ca 30 cm langes Stück vom Übergang Duodenum-Jejunum) und Muskulatur (m. quadriceps fem.) entnommen und in abgewogene Wassermannröhrchen gegeben. Es wurde darauf geachtet, daß die Organe die untere Kuppe der Röhrchen ausfüllten und diese maximal bis zu einer Höhe von 3 cm anfüllten (die Leber wurde deshalb durchweg auf drei Röhrchen verteilt), damit möglichst Meßfehler in dieser Hinsicht wegfielen. Neben Konstanz der Geometrie wurde auch die Koinzidenz für die Meßproben berücksichtigt. Im Serum wurde außer der Gesamtaktivität auch der Anteil des freien Jod gemessen und die Proteinkonzentration bestimmt. Nach der Messung der Aktivität der Organe wurden diese bei 100° getrocknet und ihr Trockengewicht bestimmt.

5. AUSWERTUNG DER MESSERGEBNISSE

Die in den Organen gemessenen Impulse wurden entsprechend dem physikalischen Zerfall des Jod-131 zwischen Injektions- und Meßzeit korrigiert, wobei auf den Zeitpunkt der Injektion bezogen wurde. Es wurden zweierlei Einzelwerte für jedes Organ errechnet:

1. Die "spezifische Aktivität" aus den Gesamtimpulsen eines Organs (I_o), dem Trockengewicht (G) und der Injektionsdosis (D):

$$\frac{I_o \times 10^6}{G \times D}$$

Daraus ergibt sich ein Wert, welcher die Impulse pro mg Organ in $^{\circ}/\text{ooooo}$ ($10^{-4}\%$) der Injektionsdosis angibt. Dieser Bezugswert wurde gewählt, um einerseits die meist unterschiedlichen Organgewichte der Tiere zu eliminieren (Division durch das Trockengewicht G) und zum anderen, um den Werten eine bessere Vergleichbarkeit zu verleihen (Faktor 10^4 bzw. 10^6).

2. Die "relative Aktivität", wobei aus der Summe der Imp/mg (I_o/G) von allen Organen eines Versuchstieres die relative Aktivität in Prozent pro mg Organ angegeben wird. Damit wird das Verteilungsmuster der Proteine im Organismus erfaßt.

Zusätzlich wurden aus den Gesamtimpulsen pro min der Leber und der Injektionsdosis der prozentuale Anteil der Aktivität in der Leber von der Injektionsdosis errechnet:

$$\frac{I_{\text{Leber}} \times 100}{D}$$

Die arithmetischen Mittel aus diesen Einzelwerten und ihre Einzelabweichungen wurden teilweise in Bezug auf den Zeitpunkt p. i., an dem sie gewonnen wurden, graphisch dargestellt (s. Anhang). Tabelle 1 (S. 18) zeigt als Beispiel die für ein Versuchstier durchgeführten Berechnungen. In den Tabellen wurden im allgemeinen nur die Mittelwerte angegeben.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. ÜBERSICHT

Insgesamt wurden fünf Untersuchungsserien durchgeführt:

1. Albumin-Grundversuch: je 2 Ratten bekamen eine native Albumincharge i. v. injiziert. (Biuret 0,2 g%; freies Jod-131 0,5%; Gesamtaktivität $8,5 \times 10^6$ Imp/min/ml; Zeiten, nach denen die Ratten p. i. getötet wurden: 10 min, 30 min, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 h).
2. Albumin-Denaturierungsversuch bei 65°: je 2 Ratten bekamen eine bei 65° denaturierte Albumincharge injiziert (Biuret 0,15 g%; freies Jod-131 3,15%; Gesamtaktivität $7,3 \times 10^6$ Imp/min/ml; Zeiten: 30 min, 2, 6, 12, 24, 48, 72 h).
3. Albumin-Denaturierungsversuch bei 80°: je 2 Ratten bekamen eine bei 80° denaturierte Albumincharge injiziert (Biuret 0,15 g%; freies Jod-131 4,2%; Gesamtaktivität $7,3 \times 10^6$ Imp/min/ml; Zeiten: 30 min, 2, 6, 12, 24, 48, 72 h).
4. Gammaglobulin-Nativversuch: je 4 Ratten bekamen eine native Beta-Gammaglobulincharge injiziert (Biuret 0,5 g%; freies Jod-131 0,0%; Gesamtaktivität $6,5 \times 10^6$ Imp/min/ml; Zeiten: 2, 6, 12, 24, 48 h).
5. Gammaglobulin-Denaturierungsversuch: je 4 Ratten bekamen eine bei 65° denaturierte Beta-Gammaglobulincharge injiziert (Biuret 0,5 g%; freies Jod-131 0,8%; Gesamtaktivität: $6,5 \times 10^6$ Imp/min/ml; Zeiten: 2, 6, 12, 24, 48 h).

Die Versuche 2, 3 und 4, 5 wurden als Parallelversuche durchgeführt, da in ihnen jeweils die gleichen, nur entsprechend thermisch modifizierten Proteinchargen verwendet wurden. Die Daten der Proteinchargen sind in Tabelle 2 nochmals zusammengestellt.

Organe	G	I ₀	I ₀ /G	spez. Aktiv.	rel. Aktiv.
Herz	121	40 940	341,1	21,3	2,77
Lunge	185	41 668	225,2	14,0	1,82
Milz	413	28 035	68,0	4,2	0,55
Niere	297	34 258	114,1	7,1	0,92
Darm	567	34 350	60,5	3,7	0,49
Musk.	171	7 653	45,0	2,8	0,36
Leber	532	34 935	65,6	4,1	0,53
Leber	-	55 398	-	-	-
Leber	-	57 652	-	-	-
Serum	62/ml	706 329/ml	11355,0	709	92,36
				12274,5	100,0 %

fr. Jod: 30 950 I₀/ml = 4,4%

Biuret 6,22 g%

D-Anteil der Leber 0,92%

Tabelle 1:

Berechnungen, die mit den Meßwerten eines Versuchstieres durchgeführt wurden. G = Trockengewicht in mg, I₀ = auf den Zeitpunkt der Injektion bezogene Imp/min, Lebensdauer nach Injektion 6 h, Injektionslösung: bei 65° denaturierte Albuminlösung; D = 16×10^6 Imp/min.

Versuch	Protein	Biuret in g%	fr. Jod in %	Gesamtaktiv. Imp/min/ml
1	Albumin nativ	0,20	0,5	$8,5 \times 10^6$
2	65°	0,15	3,1	$7,3 \times 10^6$
3	80°	0,15	4,2	$7,3 \times 10^6$
4	Gammaglobu-			
	lin nativ	0,51	0,0	$6,5 \times 10^6$
5	65°	0,51	0,8	$6,5 \times 10^6$

Tabelle 2:

Daten der verwendeten Proteinchargen

2. ERGEBNISSE

a) Albumin

Aus Tabelle 3 (S. 20) können die Mittelwerte der spezifischen Aktivität der einzelnen Organe im Verhältnis zur Zeit entnommen werden. Die Werte von Leber und Herz sind in Abb. 1 und 2 graphisch dargestellt, wobei zusätzlich die Maxima und Minima der zu einem Zeitpunkt erhaltenen Werte eingezeichnet wurden.

1. Zunächst fallen zwei typische Konstellationen der Aktivitätsverhältnisse auf:
 - a) Die spezifischen Aktivitäten von Leber (Abb. 1), Milz und Niere liegen in Abhängigkeit von der Denaturierungsstärke über den Nativwerten; so weisen beispielsweise die Organe nach Injektion des bei 80° denaturierten Albumins die höchsten Aktivitäten auf und weniger hohe nach Injektion des bei 65° denaturierten Albumins.
 - b) Umgekehrt verhalten sich Herz (Abb. 2), Lunge, Darm, Muskulatur und Serum. Hier liegen die Werte nach Injektion des bei 80° denaturierten Albumins am tiefsten unter den Nativwerten, während diejenigen des bei 65° denaturierten weniger vermindert sind.
2. Des weiteren ergibt sich, daß zwischen den spezifischen Organ-Aktivitäten des nativen und bei 65° denaturierten Albumins nur unbedeutende Unterschiede bestehen (Tab. 3: Milz, Darm, Lunge, Muskulatur, Serum), d. h., daß die Werte des bei 65° denaturierten Albumins nur unwesentlich über oder unter den Werten des nativen Albumins liegen. Nur bei Herz und Niere findet man einen deutlichen Unterschied zwischen diesen beiden Modifikationen.
3. Die spezifische Aktivität nimmt für alle Organe mehr oder weniger exponentiell ab. Der Hauptabfall hat nach 12 h stattgefunden. Lediglich Muskulatur und Niere zeigen ein abweichendes Bild. Die Nativwerte der Niere (s. Tab. 3) weisen die Tendenz auf, sich in ihrem Niveau nicht zu ändern, während die spezifische Aktivität des denaturierten Albumins nach anfänglich höheren Werten den Nativwerten im wesentlichen parallel zu verlaufen scheint. Die Aktivität der Muskulatur steigt nach Injektion nativen und bei 65° denaturierten Albumins, hat einen Gipfel bei 24 h und fällt dann ab.

In den Abbildungen 3 und 4 und der Tabelle 4 wird die relative Aktivität der einzelnen Organe in Prozent der bei einem Tier insgesamt gemessenen Aktivität dargestellt. Hierbei können folgende Ergebnisse festgestellt werden:

Organ	Lebensdauer nach Injektion	natives Albumin	bei 65° denat. Albumin	bei 80° denat. Albumin
Leber (Abb. 1)	30 min	11,9	23,5	125,0
	2 h	4,8	4,9	37,8
	6 h	7,6	6,5	16,5
	12 h	1,7	3,9	14,0
	24 h	1,7	4,2	10,4
	48 h	1,7	1,7	7,8
	72 h	1,6	1,7	4,2
Milz	30 min	8,8	20,0	40,5
	2 h	5,6	6,4	22,1
	6 h	3,9	4,3	5,7
	12 h	2,9	3,2	7,0
	24 h	3,3	3,2	4,2
	48 h	2,3	1,9	3,1
	72 h	1,7	1,4	2,5
Niere	30 min	3,7	13,3	18,3
	2 h	4,9	10,5	13,8
	6 h	3,4	6,4	12,5
	12 h	4,0	5,6	11,0
	24 h	3,0	7,2	12,6
	48 h	4,1	6,2	11,2
	72 h	3,4	4,7	7,7
Darm	30 min	3,9	5,5	8,2
	2 h	4,4	3,9	4,8
	6 h	4,2	3,0	1,9
	12 h	2,4	1,9	1,6
	24 h	1,8	2,1	1,4
	48 h	1,7	1,4	0,7
	72 h	0,8	0,9	0,3
Herz (Abb. 2)	30 min	41,0	27,5	11,3
	2 h	36,8	23,7	7,0
	6 h	34,1	20,4	4,1
	12 h	21,4	12,7	2,0

Fortsetzung Tab. 3:

Organ	Lebensdauer nach Injektion	natives Albumin	bei 65° denat. Albumin	bei 80° denat. Albumin
Herz (Forts.)	24 h	15,3	7,5	1,2
	48 h	8,7	5,5	0,7
	72 h	6,2	3,4	0,3
Lunge	30 min	32,2	31,0	10,5
	2 h	32,8	18,0	5,6
	6 h	40,2	15,4	5,3
	12 h	23,6	16,6	2,2
	24 h	11,0	12,5	1,6
	48 h	9,3	7,3	1,2
	72 h	6,8	3,6	0,4
Muskulatur	30 min	1,7	2,0	1,3
	2 h	1,5	2,2	2,5
	6 h	3,4	2,6	1,2
	12 h	5,2	3,5	0,7
	24 h	5,7	3,6	0,3
	48 h	4,6	2,1	0,2
	72 h	2,0	1,6	0,1
Serum	30 min	31,4	14,1	5,3
	2 h	27,2	9,9	2,3
	6 h	22,5	7,4	1,2
	12 h	13,8	5,1	0,6
	24 h	4,2	3,9	0,3
	48 h	2,9	2,0	0,2
	72 h	1,7	1,2	0,1

Tabelle 3:

Mittelwerte (n=2) der spezifischen Aktivität einiger Organe nach intravenöser Verabreichung nativer, bei 65° und bei 80° denaturierter Albuminlösungen. Zahlenangaben in 10⁻⁴% der I₀/G/D, s. S.16. Im Serum wurde bei der Berechnung statt des Faktors 10⁶ der Faktor 10⁴ gewählt.

Organ	Lebensdauer nach Injektion	natives Albumin	bei 65° denat. Albumin	bei 80° denat. Albumin
Leber (Abb. 3)	30 min	0,36	1,53	16,72
	2 h	0,17	0,47	11,58
	6 h	0,33	0,77	9,53
	12 h	0,12	0,70	12,26
	24 h	0,37	0,95	16,77
	48 h	0,55	0,75	17,80
	72 h	0,85	1,22	14,61
Milz	30 min	0,27	1,31	5,54
	2 h	0,20	0,60	6,53
	6 h	0,16	0,55	3,25
	12 h	0,19	0,55	6,25
	24 h	0,78	0,73	6,94
	48 h	0,69	0,84	7,27
	72 h	0,93	0,97	9,48
Niere (Abb. 4)	30 min	0,15	0,86	2,42
	2 h	0,17	0,95	4,22
	6 h	0,14	0,83	7,24
	12 h	0,27	1,01	9,77
	24 h	0,67	1,60	20,36
	48 h	1,28	2,68	25,53
	72 h	1,87	3,47	29,14
Darm	30 min	0,12	0,36	1,13
	2 h	0,15	0,37	1,48
	6 h	0,18	0,38	1,18
	12 h	0,17	0,34	1,42
	24 h	0,40	0,50	2,21
	48 h	0,55	0,60	1,55
	72 h	0,44	0,64	1,35
Herz	30 min	1,27	1,88	1,54
	2 h	1,33	2,29	2,14
	6 h	1,41	2,57	2,48

Fortsetzung Tab. 4:

Organ	Lebensdauer nach Injektion	natives Albumin	bei 65° denat. Albumin	bei 80° denat. Albumin
Herz (Forts.)	12 h	1,56	2,33	1,81
	24 h	3,32	2,42	2,02
	48 h	2,75	2,45	1,73
	72 h	3,29	2,53	1,46
Lunge	30 min	1,09	2,06	1,46
	2 h	1,22	1,77	2,66
	6 h	1,76	2,01	3,07
	12 h	1,61	2,88	2,22
	24 h	2,55	2,89	2,63
	48 h	2,83	3,13	2,80
	72 h	3,51	2,52	1,78
Muskulatur	30 min	0,05	0,13	0,20
	2 h	0,05	0,20	0,79
	6 h	0,15	0,33	0,73
	12 h	0,35	0,63	0,60
	24 h	1,24	0,86	0,52
	48 h	1,45	0,92	0,44
	72 h	1,06	1,15	0,32
Serum	30 min	97,13	92,02	70,55
	2 h	97,74	93,32	69,02
	6 h	96,05	93,80	74,22
	12 h	95,01	91,21	65,38
	24 h	90,50	90,11	49,56
	48 h	89,44	88,73	42,61
	72 h	89,60	87,41	52,24

Tabelle 4:

Mittelwerte (n=2) der relativen Aktivität der einzelnen Organe in % pro mg von der Summe der Imp/min/mg eines Versuchstieres.

1. Das bei 65° denaturierte Albumin verhält sich ähnlich wie das native Albumin. Nur in der Niere (s. Abb. 4) weisen alle drei Chargen einen deutlich voneinander abgegrenzten Aktivitätsverlauf auf, was wahrscheinlich auf dem mit der Denaturierungsstärke ansteigenden freien Jodgehalt im Serum beruht (s. Tab. 9, S. 31). Es besteht sonst zwischen dem bei 65° denaturierten und dem nativen Albumin lediglich ein geringer Niveauunterschied in dem Sinne, daß die Werte für das denaturierte Albumin nach dem Grad der Denaturierung gestaffelt über oder unter den Werten für das native Albumin liegen.
2. Die relative Aktivität ist erhöht in Abhängigkeit von der Denaturierungsstärke und steigt zunehmend mit der Zeit in Leber (s. Abb. 3), Niere und Milz an. Beim Darm ist die relative Aktivität ebenfalls erhöht, fällt aber insgesamt wieder ab. In den anderen Organen fällt die relative Aktivität ab, liegt unter den Nativwerten oder entspricht diesen weitgehend wie z. B. in der Lunge.
3. Bei Herz, Lunge und Muskulatur zeigen sich zunächst höhere Werte für das denaturierte Albumin als für das Nativprotein. Nach 24 h (Lunge 48 h) liegen aber die relativen Nativwerte höher als die Werte für das denaturierte Protein.

Quantitative Aussagen lassen sich sehr schwer machen, da sie umso ungenauer sind, je kleiner die Meßwerte werden. Deshalb werden anhand Tabelle 5 (S. 25) nur die Ergebnisse für die Leber (das Organ mit der höchsten Gesamtimpulszahl) dargestellt. Ausgehend von der injizierten Impulszahl/min werden die in der Leber gemessenen und auf den Zeitpunkt der Injektion umgerechneten Impulse in % der Gesamtdosis angegeben. Diese Prozentangaben würden dann dem vorwiegend intracellulär in der Leber enthaltenen Proteinanteil entsprechen. So läßt sich feststellen, daß nach 48 h das bei 65° denaturierte Albumin schon so wie das native in fast gleicher Menge in der Leber enthalten ist.

Hingegen befindet sich das bei 80° denaturierte Albumin nach einem schon anfänglich wesentlich höherem Prozentsatz noch nach 72 h deutlich vermehrt in der Leber im Gegensatz zum nativen und dem bei 65° denaturierten Albumin.

Allgemein läßt sich sagen, daß nach Injektion denaturierten und mit J-131 markierten Albumins absolut und relativ höhere Radioaktivität in Abhängigkeit von der Denaturierung in Leber, Niere und Milz nachzuweisen ist. Vermindert ist das denaturierte Albumin in Muskulatur, Herz und Serum. Ein unterschiedliches Verhalten in Darm und Lunge ist nicht sicher nachzuweisen.

Die Denaturierungsstufen von 65° und 80° unterscheiden sich darin, daß das bei 65° denaturierte Albumin sich ziemlich ähnlich dem nativen Albumin verhält, wohingegen das bei 80° denaturierte deutliche Abweichungen von den Nativwerten zeigt.

Nach einer Zeit von	natives Albumin	65° denat. Albumin	80° denat. Albumin
30 min	1,31	4,05	24,80
	1,40	4,28	23,03
2 h	0,58	0,82	6,82
	0,87	1,08	4,59
6 h	1,20	0,87	2,63
	0,93	0,92	3,05
12 h	0,33	0,68	2,29
	0,33	0,71	2,17
24 h	0,37	0,65	1,83
	0,43	0,54	2,07
48 h	0,38	0,33	1,11
	0,29	0,40	1,42
72 h	0,23	0,27	0,76
	0,31	0,36	0,87

Tabelle 5:

Albuminanteil in der Leber in Prozent der injizierten Gesamtmenge (Einzelwerte).

b) Gammaglobulin

In Tabelle 6 werden die spezifischen Aktivitäten der Organe nach Injektion von nativem und bei 65° denaturiertem Gammaglobulin angegeben. Als Beispiele sind die Werte von Milz (Abb. 5) und Herz (Abb. 6) graphisch dargestellt. Es können folgende Feststellungen getroffen werden:

1. In allen Organen scheint das denaturierte Gammaglobulin weniger als das vergleichbare native Protein enthalten zu sein.

2. In Leber, Milz, Niere und Darm gleichen sich die Aktivitätswerte für das native und das denaturierte Gammaglobulin einander an.
3. Es ist auffällig, daß in diesen vier Organen (Leber, Milz, Niere und Darm) das denaturierte Protein zunächst vermehrt enthalten ist im Verhältnis zum nativen Gammaglobulin. Nach 6-12 h hat sich dieses Verhältnis umgekehrt, jetzt liegt der Gehalt an denaturiertem Gammaglobulin unter dem des nativen Gammaglobulin. Ein vergleichsweises Verhalten des Albumins läßt sich in diesem Ausmaß nicht feststellen, nur beim Darm (Tab. 3, S. 20) findet man ein ähnliches Phänomen.
4. In der Muskulatur nimmt der Gammaglobulingehalt zunächst zu, um dann nach 12 h wieder abzufallen.
5. Der Abfall der Aktivitätswerte ist weniger steil und unkontinuierlicher als beim Albumin; auch ist die Streubreite der Einzelwerte größer.

Organ	Lebensdauer nach Injektion	natives Gammaglobulin	bei 65° denaturiertes Gammaglobulin
Leber	2 h	15,6	47,1
	6 h	8,6	7,3
	12 h	17,3	13,2
	24 h	6,3	2,3
	48 h	4,8	4,5
Milz (Abb. 5)	2 h	8,0	15,0
	6 h	10,8	4,9
	12 h	7,8	6,2
	24 h	6,1	3,2
	48 h	2,5	2,1
Niere	2 h	10,8	10,8
	6 h	7,2	9,1
	12 h	4,8	4,1
	24 h	3,7	1,8
	48 h	2,0	1,6
Darm	2 h	5,9	8,0
	6 h	4,8	5,5
	12 h	4,4	4,1

Fortsetzung Tab. 6:

Organ	Lebensdauer nach Injektion	natives Gammaglobulin	bei 65° denaturiertes Gammaglobulin
Darm (Forts.)	24 h	3,7	1,6
	48 h	1,9	1,4
Herz (Abb. 6)	2 h	37,1	18,5
	6 h	32,5	15,8
	12 h	30,2	12,2
	24 h	18,5	8,7
	48 h	11,3	5,3
Lunge	2 h	44,7	20,9
	6 h	37,2	17,1
	12 h	36,2	18,0
	24 h	21,2	11,5
	48 h	17,6	5,8
Muskulatur	2 h	2,7	2,7
	6 h	4,3	3,0
	12 h	5,6	4,0
	24 h	5,1	2,9
	48 h	4,1	2,0
Serum	2 h	12,2	8,1
	6 h	10,4	5,5
	12 h	9,4	4,2
	24 h	5,7	2,5
	48 h	3,7	1,9

Tabelle 6:

Mittelwerte (n=4) der spezifischen Aktivität einiger Organe nach intravenöser Verabreichung nativer und bei 65° denaturierter Gammaglobulinlösung. Zahlenangaben wie in Tab. 3 (s. S. 20/21).

Bei Betrachtung der relativen Aktivitätsverhältnisse in Tabelle 7 und den Abbildungen 7 (Niere) und 8 (Herz) ergibt sich folgendes:

1. Für Herz, Muskulatur, Lunge und Serum gelten für das native wie für das denaturierte Gammaglobulin ziemlich gleiche Relativitätsverhältnisse.
2. In Leber, Milz, Niere und Darm ist der relative Gehalt vom denaturierten Gammaglobulin höher als der vom nativen Gammaglobulin.
3. In der Muskulatur zeigt sich ein langsamer Anstieg der relativen Aktivität für beide Gammaglobulinmodifikationen.

Organ	Lebensdauer nach Injektion	natives Gammaglobulin	bei 65° denaturiertes Gammaglobulin
Leber	2 h	1,10	4,98
	6 h	0,74	1,42
	12 h	1,71	2,73
	24 h	1,00	0,98
	48 h	1,16	2,06
Milz	2 h	0,55	1,55
	6 h	0,96	0,81
	12 h	0,75	1,27
	24 h	1,01	1,15
	48 h	0,60	1,01
Niere (Abb. 7)	2 h	0,74	1,39
	6 h	0,63	1,48
	12 h	0,47	0,85
	24 h	0,60	0,65
	48 h	0,48	0,74
Darm	2 h	0,40	0,85
	6 h	0,41	0,89
	12 h	0,42	0,85
	24 h	0,59	0,59
	48 h	0,47	0,67

Fortsetzung Tab. 7:

Organ	Lebensdauer nach Injektion	natives Gammaglobulin	bei 65° denaturiertes Gammaglobulin
Herz (s. Abb. 8)	2 h	2,77	2,03
	6 h	2,85	2,56
	12 h	2,88	2,56
	24 h	2,95	3,06
	48 h	2,64	2,42
Lunge	2 h	3,15	2,30
	6 h	3,20	2,78
	12 h	3,49	3,71
	24 h	3,37	4,07
	48 h	4,16	2,73
Muskulatur	2 h	0,19	0,29
	6 h	0,38	0,49
	12 h	0,55	0,82
	24 h	0,82	1,03
	48 h	0,98	0,93
Serum	2 h	90,92	87,33
	6 h	90,75	89,48
	12 h	89,52	87,19
	24 h	89,67	88,30
	48 h	88,98	89,26

Tabelle 7:

Mittelwerte (n=4) der relativen Aktivität der einzelnen Organe in % pro mg Organ von der Summe der Imp/min/mg eines Tieres.

In Tabelle 8 werden, wie schon für das Albumin in Tabelle 5, die in % der injizierten Gammaglobulinmenge umgerechneten Gesamtimpulse/min der Leber dargestellt. Man sieht, daß der Proteinanteil in der Leber nach Injektion von denaturiertem Gammaglobulin anfänglich höher ist, aber schon nach 6 h niedriger liegt als nach Injektion von nativem Gammaglobulin.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß das denaturierte Gammaglobulin sich in allen untersuchten Organen absolut vermindert findet im Verhältnis zum

nativen Gammaglobulin. In Leber, Milz, Niere und Darm ist der relative Anteil vom insgesamt nachgewiesenen denaturierten Gammaglobulin höher als vom nativen.

Hinsichtlich des quantitativen Verhaltens zeigt sich eine Zunahme des denaturierten Albumins in der Leber in Abhängigkeit von der Denaturierung; das denaturierte Gammaglobulin hingegen findet man nach einer anfänglichen Erhöhung vermindert in der Leber enthalten.

Lebensdauer nach Injektion	natives Gammaglobulin	bei 65° denaturiertes Gammaglobulin
2 h	2,53	6,63
	2,05	7,84
	2,71	8,02
	-	3,29
	$\bar{x} = 2,43$	$\bar{x} = 6,85$
6 h	0,81	2,02
	0,96	0,70
	1,98	1,12
	1,13	0,75
	$\bar{x} = 1,22$	$\bar{x} = 1,12$
12 h	1,25	2,53
	1,71	2,51
	2,22	1,94
	3,70	0,98
	$\bar{x} = 2,22$	$\bar{x} = 1,99$
24 h	1,03	0,37
	0,67	0,23
	1,09	0,28
	0,93	0,26
	$\bar{x} = 0,93$	$\bar{x} = 0,27$

Fortsetzung Tab. 8:

Lebensdauer nach Injektion	natives Gammaglobulin	bei 65° denaturiertes Gammaglobulin
48 h	0,83	0,55
	0,61	0,25
	0,45	0,66
	0,37	0,43
$\bar{x} =$	0,56	$\bar{x} =$ 0,47

Tabelle 8:

Gammaglobulinanteil in der Leber in % der injizierten Gesamtglobulinmenge (Einzelwerte)

c) Anteil des freien Jod-131 im Serum

In Tabelle 9 wird der Prozentgehalt des freien Jod-131 im Serum wiedergegeben. Es zeigt sich eine Zunahme des Jod-131 in Abhängigkeit von der Zeit und von der Denaturierung bei beiden Proteinen. Die Werte sind mit Ausnahme nach Injektion des bei 65° denaturierten Albumins - und hier auch nur teilweise - alle höher als in vitro (Tab. 2, S.18).

Zeit	natives Albumin	bei 65° denat. Albumin	bei 80° denat. Albumin	nativ. Gamma- globulin	bei 65° denat. Globulin
30 min	0,5	2,4	16,6	-	-
2 h	0,5	3,3	26,8	0,9	7,8
6 h	0,8	4,6	43,4	1,6	7,8
12 h	1,1	2,6	17,0	2,5	8,6
24 h	3,0	4,3	40,0	4,3	5,2
48 h	5,3	3,1	28,6	3,7	8,2
72 h	8,5	1,5	12,7	-	-
96 h	8,7	-	-	-	-
120 h	6,8	-	-	-	-

Tabelle 9: Prozentualer Anteil des freien J-131 im Serum

D. DISKUSSION

Die verwendeten Proteine unterlagen sowohl durch ihre Präparation als auch durch die J-131-Markierung einer gewissen Denaturierung. Dieser Denaturierungseffekt ist prinzipieller Natur und läßt sich, so gering er auch sein mag, nicht vollständig ausschalten (24). Die von uns befolgte elektrophoretische Präparation in der Kälte und die nach McFARLANE ausgeführte J-131-Markierung (32) sind zwar anerkannt proteinschonende Methoden, dennoch mußte von vornherein mit stärkergradigen Denaturierungserscheinungen insbesondere bei dem sehr labilen Gammaglobulin gerechnet werden. Die Nativität eines Proteins läßt sich ohnehin nur durch die negative Aussage charakterisieren, daß an ihnen keine Denaturierungserscheinungen nachgewiesen werden können (35).

Die zur Kontrolle der Injektionslösung durchgeführte Papierelektrophorese ergab keine Zeichen der Denaturierung und diente gleichzeitig der Reinheitsprüfung der Präparate. Die Albuminlösungen erwiesen sich frei von sichtbaren Beimengungen anderer Fraktionen; die Gammaglobulincharge enthielt einen geringen Betaglobulinanteil, der präparatorisch nur mit einem sehr viel größeren Aufwand ausschaltbar gewesen wäre. Sicher darf postuliert werden, daß insbesondere die Immunproteine neben einigen anderen Betaglobulinen in der Charge enthalten waren.

Der Anteil der freien J-131-Aktivität in den Injektionslösungen ist abhängig vom Denaturierungsgrad, wie Tab. 10(c) zeigt. Offenbar bewirkt aber der thermische Einfluß nicht nur eine Strukturveränderung der Proteine, sondern beeinflußt auch relativ unabhängig davon die Jodfixationsfähigkeit. So bindet zumindest das denaturierte Albumin J-131 weniger gut als das entsprechend denaturierte Gammaglobulin, obwohl, gemessen am Trübungseffekt, Gammaglobulin gegen Hitzeeinwirkung empfindlicher ist als Albumin.

Zur Beurteilung der Frage, inwieweit die nachgewiesenen Radioaktivitäten ein quantitatives Äquivalent für das injizierte Protein sind, und um einen ersten Einblick in den Stoffwechsel der verabreichten Proteine zu bekommen, schien es zweckmäßig, die proteingebundene und freie J-131-Aktivität im Serum und die Nierenaktivität vergleichend zu betrachten (vergl. Tab. 10). Dabei kann über die Faktoren, welche die Aktivität im Serum und in der Niere beeinflussen, ganz allgemein folgende Betrachtung angestellt werden:

1. Der Gehalt an proteingebundenem und freiem J-131 im Serum ist abhängig
 - a) vom freien Jodgehalt in der Injektionslösung, was aber von geringer Bedeutung sein dürfte, da dieser Schwankungen in engen Grenzen von nur 0, 0% bis maximal 4, 2% der gesamten Injektionsaktivität aufweist.

- b) vom Proteinumsatz. Je rascher dieser vonstatten geht, desto mehr freies Jod müßte im Serum auftreten und ein umso schnellerer Rückgang der spezifischen, proteingebundenen Serum-J-131-Aktivität müßte sich zeigen.
2. Die J-131-Aktivität der Niere wurde nach Perfusion der Nierengefäße gemessen. Bei den sich ergebenden Meßwerten muß es sich daher um Aktivitäten im Bereich des Tubulussystems bzw. des Parenchyms handeln. Dabei kann nicht zwischen freiem und gebundenem J-131 unterschieden werden. Sicher stehen die gemessenen Nierenaktivitäten mit dem Gesamtproteinumsatz in direktem Zusammenhang und spiegeln nicht etwa nur eine eventuelle lokale Abbautätigkeit der Niere wieder.

Bei Betrachtung der Serumaktivitäten zeigt sich, sofern man den 72 h-Wert außer acht läßt, daß die freien J-131-Aktivitäten im Serum des bei 65° denaturierten Albumins im Ganzen gesehen höher liegen als beim nativen Albumin. Dieser Effekt verstärkt sich noch für das bei 80° erhitzte Albumin, obwohl der freie J-131-Gehalt in den denaturierten Injektionslösungen sich nur wenig unterscheidet. So liegt der Schluß nahe, daß die denaturierten Albumine mit zunehmendem Denaturierungsgrad beschleunigt umgesetzt werden, was notwendigerweise zu einer Anreicherung der Aktivitäten in der Niere führen muß, die ja als Ausscheidungsorgan für beim Proteinumsatz frei gewordenen J-131 fungiert (vergl. Tab. 10, Sp. 1-6). Offensichtlich wird die Verdaubarkeit des Albumins durch den denaturierenden Effekt von 80° so sehr gesteigert (27, 29), daß die - wie auch immer beschaffene - Jodsekretionsfähigkeit der Niere das Angebot an freigesetztem Jod nicht mehr zu bewältigen vermag und das freie Jod im Serum kumuliert (Sp. 5).

Ganz ähnlich verhält sich auch das Gammaglobulin. Dies gilt insbesondere für die im Serum gemessenen freien Jodaktivitäten, wobei zu bemerken ist, daß diese im Vergleich zu den entsprechenden Albumin-Meßwerten im Serum eher höher liegen. Bei Berücksichtigung der im Verhältnis zu den Albumin-injektionslösungen beim Gammaglobulin niedrigeren freien Jodaktivitäten wird man die erhöhten Werte des freien J-131 im Serum der Gammaglobulinversuche als Ausdruck eines im Vergleich zum Albumin rascheren Gammaglobulinsatzes werten können. Allerdings überrascht dabei, daß die Nierenaktivitäten im Gammaglobulinversuch relativ niedrig liegen. Zwar zeigt der 2 h-Nierenwert höhere Aktivität als der vergleichbare Albuminwert, doch fallen dann die Aktivitäten relativ schnell ab. Ein Ansatz zur Erklärung dieser Diskrepanz ergibt sich bei Betrachtung der spezifischen Serumaktivität. Aus Tab. 11 geht klar hervor, daß die spezifische Serumaktivität etwa beim Albumin

mit zunehmender Denaturierung signifikant abnimmt: während der 2 h-Wert des nativen Albumins sich mit 27,2 (im folgenden immer in $10^{-2}\%$ der $I_0/G/D$) errechnet, liegen die Werte für das bei 65° denaturierte Albumin bei 10 und für das bei 80° denaturierte Albumin bei 2,3. Der mit zunehmender Denaturierung ansteigende Proteinumsatz und der damit verbundene rasche Abraum des denaturierten Proteins aus der Blutbahn wird aus diesen Zahlen besonders deutlich.

Zeit	natives		bei 65°		bei 80°		natives		bei 65°	
	Albumin		denat.		denat.		Gamma-		denat. G-	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)
30'	0,5	3,7	2,4	13,3	16,6	18,3	-	-	-	-
2 h	0,5	4,9	3,3	10,5	26,8	13,8	0,9	10,8	7,8	10,8
6 h	0,8	3,4	4,6	6,4	43,4	12,5	1,6	7,2	7,8	9,1
12 h	1,1	4,0	2,6	5,6	17,0	11,0	2,5	4,8	8,6	4,1
24 h	3,0	3,0	4,3	7,2	40,0	12,6	4,3	3,7	5,2	1,8
48 h	5,3	4,1	3,1	6,2	28,6	11,2	3,7	2,0	8,2	1,6
72 h	8,5	3,4	1,5	4,7	12,7	7,7	-	-	-	-
c)	0,5		3,1		4,2		0,0		0,8	

Tabelle 10: Zusammenstellung des prozentualen Anteils des freien Jod- 131 im Serum (a) und in den Injektionslösungen (c) (Zahlenangaben in Prozent), und der spezifischen Nierenaktivität (b) (Zahlenangaben in $10^{-4}\%$).

Zeit	natives	bei 65°	bei 80°	natives	bei 65°
	Albumin	denat. Albumin	denat. Albumin	Gamma-globulin	denat. G-Globulin
30'	31,4	14,1	5,3	-	-
2 h	27,2	9,9	2,3	12,2	8,1
6 h	22,5	7,4	1,2	10,4	5,5
12 h	13,8	5,1	0,6	9,4	4,2
24 h	4,2	3,9	0,3	5,7	2,5
48 h	2,9	2,0	0,2	3,7	1,9
72 h	1,7	1,2	0,1	-	-

Tabelle 11: Spezifische Serumaktivität. Zahlenangaben in $10^{-2}\%$ der $I_0/G/D$

Betrachtet man die gleichen Werte für das Gammaglobulin, so ergeben sich für das native ein Wert von 12,2 und für das bei 65° denaturierte Gammaglobulin eine Größe von 8,1. Der Vergleich der entsprechenden Werte zeigt also, daß sowohl nativen als auch denaturiertes Gammaglobulin rascher umgesetzt und aus dem Blut entfernt werden, als dies für Albumin der Fall ist. Leider ist ein Vergleich der Werte bei 30 min nicht möglich, da die entsprechenden Werte für das Gammaglobulin nicht erhoben wurden; es ist aber mit großer Wahrscheinlichkeit zu vermuten, daß der Gammaglobulinumsatz außerordentlich rasch erfolgt und sowohl für das präparativ offenbar erheblich geschädigte "nativ"-Präparat, mehr aber noch für das bei 65° denaturierte Gammaglobulin bereits 2 h p.i. weitgehend vollzogen ist. Hieraus würde sich auch erklären, daß die Nierenaktivitäten für das denaturierte Gammaglobulin bereits vom 2 h-Wert schon wieder rückläufig sind.

Die Auswertung der Organaktivitäten ergibt, daß das denaturierte Protein vermehrt im RES aufgenommen wird. Deutlich wird dieses Verhalten aus Tab. 12. Das Albumin wird in Abhängigkeit vom Denaturierungsgrad vermehrt in den Organen mit großem Reticuloendothelgehalt aufgenommen. Das zeigt sich nicht nur bei spezifischer (vergl. auch Tab. 5), sondern besonders auch - in Abhängigkeit von der Zeit - bei relativer Betrachtungsweise.

Die Gammaglobulinwerte in Leber und Milz (Tab. 12) nehmen, sofern die 2 h-Aktivitäten betrachtet werden, ebenfalls mit der Proteindenaturierung zu, wobei im Vergleich zum Albumin deutlich höhere Werte gemessen und errechnet werden. Weiterhin fällt auf, daß die spezifische Organaktivität in Leber und Milz 2 h nach Injektion des denaturierten Gammaglobulins den Höchstwert erreicht, im folgenden aber - im Gegensatz zum Verhalten des Albumins - vergleichsweise unter die Nativwerte abfällt (vergl. auch Tab. 8), was in Ergänzung des bereits Besprochenen für den außerordentlich raschen, in wenigen Stunden erfolgenden Abbau insbesondere des denaturierten Gammaglobulins spricht.

Organe mit geringerem RE-Gehalt wie Herz und Muskulatur weisen dagegen eine andere Verteilung auf (Tab. 13). Deutlicher beim Albumin als beim Gammaglobulin nehmen sowohl spezifische als auch relative Aktivität in Abhängigkeit von der Denaturierung ab. Hierzu zählt auch die Lunge (Tab. 3, 4, 6, 7), von der bekannt ist, daß sie aerogen zugeführte Vitalfarbstoffe schneller speichert als hämatogen zugeführte, weil anscheinend die Schutzfunktion der Alveolarepithelien vorwiegend alveolarwärts gerichtet ist und sich primär nicht auf das Blut erstreckt. Überraschend sind allerdings im Vergleich zu den übrigen Organen die hohen Aktivitäten von Herz und Lunge, welche aber durch die in diesen Organen wahrscheinlich mangelhafte, im

übrigen technisch bedingte Perfundierung verursacht sind: im Gegensatz zur Muskulatur, Leber, Milz, Niere und dem Darm, die bei der Perfusion direkt von der Aorta aus durchspült wurden, erreichte die Spülflüssigkeit Herz und Lungen erst auf dem venösen Rückfluß, sozusagen endständig und sicherlich mit reduzierter Perfusionswirkung, so daß die hohen Organaktivitäten verständlich werden.

Die Verteilung der Proteine in den untersuchten Organen ist in Tabelle 14 noch einmal zusammengestellt. Hier zeigt sich deutlich, daß Herz, Lunge und Muskulatur für den Abbau denaturierter Proteine kaum infrage kommen. Über eine diesbezügliche Funktion des Darmes können wir aus methodischen Gründen nichts aussagen. Hierzu hätten die Ausscheidungen der Versuchstiere auf ihren Gehalt an freiem und proteingebundenem Jod untersucht werden müssen. Ein Abbau nativer Proteine durch den Magen-Darmtrakt gilt jedoch als gesichert (2, 24, 26, 48).

Das Studium der einschlägigen Literatur (6, 9, 46) bestätigt den Befund, daß das RES denaturiertes Albumin aus dem Kreislauf eliminiert. Die Proteinaggregate werden wie Fremdstoffe durch Phagocytose von den entsprechenden Zellen aufgenommen und abgebaut. Diese Art der Elimination kann das Verhalten des denaturierten Albumins hinreichend erklären, welches ja auch in den vorliegenden Studien in den RES-haltigen Organen wie Leber, Milz und Niere vermehrt, vermindert dagegen in Organen ohne Reticuloendothel angetroffen wurde.

Einen prinzipiell gleichen Abbaumechanismus wird man auch für das Gammaglobulin annehmen dürfen, wobei allerdings der im Vergleich zum Albumin offenbar in Stunden geradezu rasant ablaufende Eliminationsprozeß des denaturierten Gammaglobulins, der mit unserem Untersuchungsansatz nur eben angedeutet erfaßt wurde, zu ergänzenden Vorstellungen hinsichtlich zusätzlicher, den Abbau fördernder Faktoren Anlaß gegeben hat:

- 1) Phagocytoseprozesse werden um so rascher und vollständiger ablaufen, je grobklockiger die physiko-chemische Beschaffenheit des von den Freßzellen aufzunehmenden Stoffes ist. Die bekannte, gegenüber Albumin erhöhte Labilität und Flockungsbereitschaft der Gammaglobuline wirkt sich zweifellos für den raschen Abraum insbesondere des denaturierten Gammaglobulins günstig aus.
- 2) Eine zusätzliche Aktivierung des Abbaues denaturierten Gammaglobulins könnte auch durch eine Komplementbindungsreaktion vermutet werden. Normalerweise ist die Voraussetzung der Komplementbindung ein Antigen-Antikörper-Komplex, welcher dann inaktiviert und im allgemeinen aufgelöst wird. In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, daß Gam-

maglobulin insbesondere nach Hitzeeinwirkung Aggregate zu bilden vermag, die auch ohne vorherige Ag-Bindung Komplement anlagern können (3, 42). Diese Gammaglobulinaggregate unterliegen nach der Komplementbindung genauso der einsetzenden Lyse wie normale Antigen-Antikörper-Komplexe.

- 3) Weiterhin müssen Nierenfiltrationsvorgänge (24) in Erwägung gezogen werden, da durch die thermische Alteration möglicherweise auch Proteinbruchstücke mit Molekulargewichten unter 68 000 entstanden sein können. Proteine dieser Größe werden bekanntlich schon durch die Glomerulummembran filtriert und nicht resorbiert.

Abschließend erscheint bei Betrachtung der gewonnenen Resultate das unterschiedliche Verhalten von Albumin und Gammaglobulin unter dem Gesichtspunkt der Nützlichkeit für den Organismus plausibel. Der Organismus wird das Albumin, welches derart vielfältige Stoffwechselfunktionen ausübt, nicht ohne weiteres dem Abbau anheimfallen lassen. Auf der anderen Seite erscheint die rasche Elimination denaturierten Gammaglobulins geradezu wünschenswert, bedenkt man die Aufgaben des Gammaglobulin-Komponentensystems für Immunitätsprozesse. Die vom Gammaglobulin in der Immunreaktion erreichte Antigenbindung und Entgiftung wird in ihrer Effektivität erst vollkommen, wenn es gelingt, das Praezipitationsprodukt auch rasch aus dem Organismus zu eliminieren.

E. ZUSAMMENFASSUNG

- 1) Untersucht wurde das Verhalten von normalem und hitzedenaturiertem homologen Albumin und Gammaglobulin im Rattenorganismus. Gammaglobulin war bei 65°, Albumin bei 65° und bei 80° denaturiert. Durch J-131-Markierung der Proteine konnte deren Verhalten im Rattenorganismus verfolgt werden.
- 2) Als wesentliches Ergebnis bleibt festzustellen, daß der Proteinumsatz der denaturierten Proteine in Abhängigkeit vom Denaturierungsgrad beschleunigt wird. Gammaglobulin, das bekanntermaßen gegen Denaturierungseinflüsse empfindlicher ist als Albumin, wurde sowohl als "natives" Protein als auch im denaturierten Zustand (65°) im Vergleich zum Albumin rascher umgesetzt. Der Unterschied hinsichtlich des Katabolismus zwischen Albumin und Gammaglobulin ist nicht prinzipieller, sondern quantitativer Natur. Als Abbauorgan konnte das RES ermittelt werden.
- 3) Bei teleologischer Betrachtung erscheint der vergleichsweise rasche Abbau des denaturierten Gammaglobulins im Hinblick auf die immunologischen Abwehraufgaben der Gammaglobuline besonders nützlich.

	natives Albumin		bei 65° denat. Albumin		bei 80° denat. Albumin		natives G-Globulin		bei 65° denat. G-Globulin	
	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)
Leber										
30'	11,9	0,36	23,5	1,55	125,0	16,72	-	-	-	-
2 h	4,8	0,17	4,9	0,47	37,8	11,58	15,6	1,10	47,1	4,98
6 h	7,6	0,33	6,5	0,77	16,5	9,53	8,6	0,74	7,3	1,42
12 h	1,7	0,12	3,9	0,70	14,0	12,26	17,3	1,71	13,2	2,73
24 h	1,7	0,37	4,2	0,95	10,4	16,77	6,3	1,00	2,3	0,98
48 h	1,7	0,55	1,7	0,75	7,8	17,80	4,8	1,16	4,5	2,06
72 h	1,6	0,85	1,7	1,22	4,2	14,61	-	-	-	-
Milz										
30'	8,8	0,27	20,0	1,31	40,5	5,54	-	-	-	-
2 h	5,6	0,20	6,4	0,60	22,1	6,53	8,0	0,55	15,0	1,55
6 h	3,9	0,16	4,3	0,55	5,7	3,25	10,8	0,96	4,9	0,81
12 h	2,9	0,19	3,2	0,55	7,0	6,25	7,8	0,75	6,2	1,27
24 h	3,3	0,78	3,2	0,73	4,2	6,94	6,1	1,01	3,2	1,15
48 h	2,3	0,69	1,9	0,89	3,1	7,27	2,5	0,60	2,1	1,01
72 h	1,7	0,93	1,4	0,97	2,5	9,48	-	-	-	-

Tabelle 12: Zusammenstellung der spezifischen (a) und relativen (b) Aktivitäten der Leber und Milz. Zahlenangaben wie in den Tabellen 3, 4, 6 und 7

	bei 65°		bei 80°		bei 65°	
	natives Albumin	denat. Albumin	denat. Albumin	natives Albumin	denat. G-Globulin	denat. G-Globulin
	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(b)
Herz						
30'	41,0	1,27	27,5	1,88	11,3	1,54
2 h	36,8	1,33	23,7	2,29	7,0	2,14
6 h	34,1	1,41	20,4	2,57	4,1	2,48
12 h	21,4	1,56	12,7	2,33	2,0	1,81
24 h	15,3	3,32	7,5	2,42	1,2	2,02
48 h	8,7	2,75	5,5	2,45	0,7	1,73
72 h	6,2	3,29	3,4	2,53	0,3	1,43

Tabelle 13: Zusammenstellung der spezifischen (a) und relativen (b) Aktivitäten im Herz.
Zahlenangaben wie in Tabelle 3, 4, 6 und 7.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLISON, A. C.: Turnover of erythrocytes and plasma proteins in mammals. *Nature (Lond.)* 188, 37-40 (1960)
2. ANDERSON, S. B., J. GLENERT and K. WALLEVIK: Gamma-globulin turnover and intestinal degradation of gamma-globulin in the dog. *J. clin. Invest.* 42, 1873-81 (1963)
3. BARANDUN, S.: Die Gammaglobulin-Therapie. Chemische, immunologische und klinische Grundlagen. Basel-New York 1964
4. BEDNARIK, T., J. REJNEK and V. KNESSLOVA: The fate of S-35 labeled heterologous gamma-globulin following intraperitoneal administration in rats. *Physiol. bohemoslov.* 11, 329-35 (1962), zitiert nach C. A. 58, 11769 b (1963)
5. BEEKEN, W. L., W. VOLWILER, P. D. GOLDSWORTHY, L. E. GARBY, W. E. REYNOLDS, R. STOGSDILL and R. S. STELLMER: Studies of J-131-albumin catabolism and distribution in normal young male adults. *J. clin. Invest.* 41, 1312-33 (1962)
6. BENACERRAF, B., G. BIOZZI, B. N. HALPERN, C. STIFFEL and D. MOUTON: Phagocytosis of heat-denatured human serum albumin labeled with iodine-131 and its use as a mean of investigation liver blood flow. *Brit. J. exptl. Pathol.* 38, 35-48 (1957), zitiert nach C. A. 51, 16639 g (1957)
7. BENNHOLD, H. and E. KALLEE: Comparative studies on the half-life of J-131-labeled albumins and non-radioaktiv humanserum albumin in a case of analbuminemia. *J. clin. Invest.* 38, 863-72 (1959)
8. BERSON, S. A. and R. S. YALOW: Distribution and metabolism of J-131 labeled proteins in man. *Fed. Proc.* 16, 13S-18S (1957)
9. BIOZZI, G., B. N. HALPERN, C. STIFFEL and D. MOUTON: Quantitative study of the metabolic activity of the Kupffer cells on a heat-denatured serum albumin labeled with iodine-131. *Brit. J. exptl. Pathol.* 39, 510-18 (1958), zitiert nach C. A. 53, 10422 f (1959)
10. BRAMBELL, F. W. R., W. A. HEMMINGS and I. G. MORRIS: A theoretical model of gamma-globulin catabolism. *Nature (Lond.)* 203, 1352-5 (1964)
11. CATSOULIS, E. A., M. A. ROTHSCCHILD, M. ORATZ and E. C. FRANKLIN: Gammaglobulin metabolism in rabbits immunized with autologous denatured gamma-globulin. *Arthr. and Rheum.* 8, 38-49 (1965)

12. COHEN, S., R.C.HOLLOWAY, C.MATTHEWS and A.S.McFARLANE: Distribution and elimination of J-131 and C-14 labeled plasma proteins in the rabbit. *Biochem.J.* 62, 143-54 (1956)
13. COHEN, S. and A.H.GORDON: Catabolism of plasma albumin by the perfused rat liver. *Biochem.J.* 70, 544-51 (1958)
14. COHEN, S. and T.FREEMAN: Metabolic heterogeneity of human gammaglobulin. *Biochem.J.* 76, 475-87 (1960)
15. COHEN, S., A.H.GORDON and C.MATTHEWS: Catabolism of gamma-globulin by the isolated perfused rat liver. *Biochem.J.* 82, 197-205 (1962)
16. FAHEY, J.L. and A.G.ROBINSON: Factors controlling serum gamma-globulin concentration. *J.exptl. Med.* 118, 845-68 (1963)
17. FREEMAN, T.: The biological behavior of normal and denatured human albumin. *Clin.chim.Acta* 4, 788-92 (1959)
18. FREEMAN, T., A.H.GORDON and J.H.HUMPHREY: Distinction between catabolism of native and denatured proteins by the isolated perfused liver after carbon loading. *Brit.J.exptl. Pathol.* 39, 459-71 (1958), zitiert nach C.A., 53, 10468 e (1959)
19. GORDON, A.H.: Catabolic rate of albumin doubly labeled with C-14 and J-131 in the isolated perfused rat liver. *Biochem.J.* 80, 10P-11P (1961)
20. GRASSMAN, W. and K.HANNIG: Ein einfaches Verfahren zur kontinuierlichen Trennung von Stoffgemischen auf Filterpapier durch Elektrophorese. *Naturwissenschaften* 37, 397 (1950)
21. HAUROWITZ, F.: Eiweißdenaturierung. In Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Hrsg.: K.Lang, E.Lehnartz, IV, 1, 10.Aufl., Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960, S. 116-125
22. HAUROWITZ, F., S.FLEISCHER, H.WALTER and A.LEITZE: The metabolism of isotopically labeled plasma proteins. *Proc.U.N. Intern.Conf.Peaceful Uses of Atomic Energy*, 2nd, 25, 111-114, Genf 1958
23. HAWKINS, J.D.: Possible sites of catabolism of rat serum albumin. *Biochem.J.* 80, 210-14 (1961)
24. HITZIG, W.H.: Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin. Ergebnisse spezifischer Bestimmungen mit besonderer Berücksichtigung immunochemischer Methoden. Unter Mitarbeit von R.Bütler, H.Cottier, M.Hess, G.v.Mural. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963

25. JEFFAY, H. and R. J. WINZLER: The metabolism of serum proteins.
I. The turnover rates of rat serum proteins. *J. biol. Chem.* 231,
101-10 (1958)
26. KATZ, J., S. ROSENFELD and A. L. SELLERS: Sites of plasma albumin
catabolism in the rat. *Amer. J. Physiol.* 200, 1301-6 (1961)
27. KEREKES, M.: Strukturveränderungen bei hitzedenaturierten Serumei-
weißkörpern. *Naturwissenschaften* 50, 573 (1963)
28. KEREKES, M.: Elektrophoresis of heat-denatured serum proteins.
Acad. Rep. Populare Romine Studii Cercetari Biochim. 6, 251-4
(1963), zitiert nach C. A. 59, 14378 h (1963)
29. KEREKES, M.: Trypsinolysis of heat-denatured globular proteins.
Acad. Rep. Populare Romine Studii Cercetari Biochim. 7, 205-11
(1964), zitiert nach C. A. 61, 16331 b (1964)
30. MANSKE, R. F. and M. BLAU: Distribution in the rat of partially
denatured iodinated serum albumin. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 42,
133-7 (1964), zitiert nach C. A. 60, 7134 a (1964)
31. McCLUSKEY, R. T., F. MILLER and B. BENACERRAF: Sensitization to
denatured autologous gamma-globulin. *J. exptl. Med.* 115, 253-73
(1962)
32. McFARLANE, A. S.: Labelling of plasma proteins with radioactive
iodine. *Biochem. J.* 62, 135-43 (1956)
33. McFARLANE, A. S.: Biological studies with labeled amino acids and
proteins. *Proc. U. N. Intern. Conf. Peaceful Uses of Atomic Energy*,
2nd, 25, 100-7, Genf 1958
34. McFARLANE, A. S.: Catabolism of plasma proteins. *Lancet* 1963-I,
131-2
35. MÜLLER, H. E.: Über die Absorption von Proteinen in Abhängigkeit
von ihrer Denaturierung. *Med. Diss. Mainz* 1964
36. MÜLLER-SEIFERT: Taschenbuch der Medizinisch-Klinischen Diagnostik.
Hrsg.: H. Frh. v. Kress, 68. Aufl., München 1962, S. 347
37. PORTER, R. R.: Separation and isolation of fractions of rabbit gamma-
globulin containing the antibody and antigenic combining sites.
Nature (Lond.) 182, 670 (1958)
38. REEVE, E. B. and J. E. ROBERTS: The catabolism of plasma albumin
in the rabbit. Its rate and regulation. *J. gen. Physiol.* 43, 445-53
(1959)
39. REJNEK, J., T. BEDNARIK and V. KNESSLOVA: The fate of S-35 labeled
heterologous albumin following intraperitoneal application in rats.
Physiol. bohemoslov. 11, 336-42 (1962), zitiert nach C. A. 58,
11769 c (1963)

40. ROTHSCCHILD, M. A., A. BAUMANN, R. S. YALOW and S. A. BERSON:
Tissue distribution of J-131 labeled human serum albumin following
intravenous administration. *J. clin. Invest.* 34, 1354-8 (1955)
41. SCHULTZE, H. E. und K. HEIDE: Der neueste Stand der Plasmaprotein-
forschung. In *Medizinische Grundlagenforschung*. Hrsg.: K. Fr.
Bauer, III, Stuttgart 1960, S. 351-414
42. SCHULTZE, H. E. und G. SCHWICK: Über neue Möglichkeiten intra-
venöser Gammaglobulin-Applikation. *Dtsch. med. Wschr.* 87,
1643-50 (1962)
43. SEGAL, L.: Stufenweise Denaturierung von Eiweißen. *Acta biol. med.*
germ. 10, 488-500 (1963)
44. SOLOMON, A., A. T. WALDMANN and J. L. FAHEY: Metabolism of
normal 6, 6 S gammaglobulin in normal subjects and in patients
with macroglobulinemia and multiple myeloma. *J. Lab. clin. Med.*
62, 1-17 (1963)
45. STEINFELD, J. L., F. E. GREENE, D. L. TABERN, R. R. PATON and
A. L. FLICK: Degradation of iodinated human serum albumin
prepared by various procedures. *J. Lab. clin. Med.* 51, 756-66
(1958)
46. THORBECKE, G. J., P. H. MAURER and B. BENACERRAF: The affinity
of the reticuloendothelial system for various modified serum proteins.
Brit. J. exptl. Pathol. 41, 190-7 (1960), zitiert nach C. A. 54,
21399 c (1960)
47. WEIGLE, W. O.: Elimination of J-131-labeled homologous and hetero-
logous serum proteins from blood of various species. *Proc. Soc. exp.*
Biol. (N. Y.) 94, 306-9 (1957)
48. WETTERFORS, J., R. GULLBERG, S.-O. LILJEDAHL, L.-O. PLANTIN,
G. BIRKE and B. OLHAGEN: Role of the stomach and small intestine
in albumin breakdown. *Acta med. scand.* 168, 347-63 (1960)
49. WUHRMANN, F. und H. MÄRKI: *Dysproteinämien und Paraproteinämien*.
4. Aufl., Basel-Stuttgart 1963
50. HEIDE, K.: *Die Immunglobuline des menschlichen Serums. Die gelben*
Hefte. Immunbiologische Informationen der Behringwerke AG.
Heft 9, 321-33 (1965)

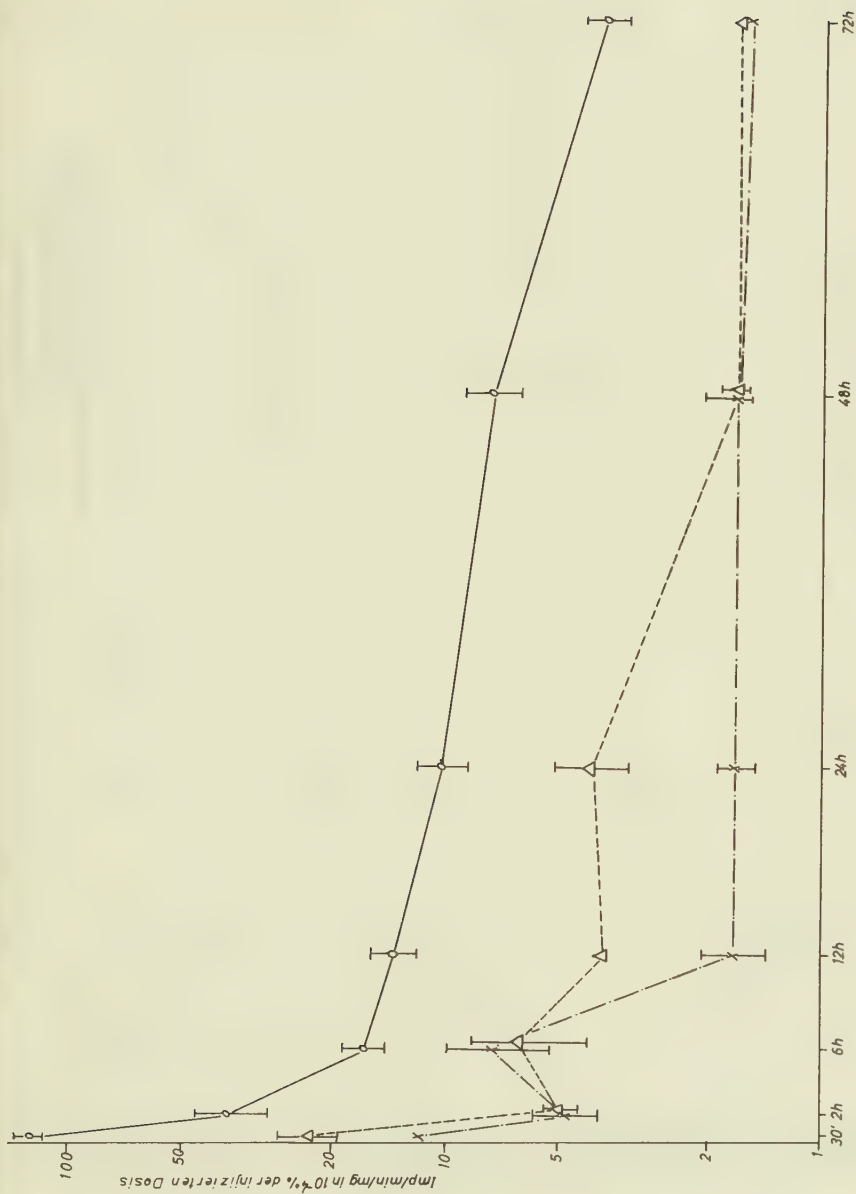


Abbildung 1: Spezifische Aktivität der Leber (n=2)
 o= bei 80° denaturiertes Albumin
 Δ= bei 65° denaturiertes Albumin
 x= natives Albumin



Abbildung 2: Spezifische Aktivität vom Herz
 o = bei 80° denaturiertes Albumin
 Δ = bei 65° denaturiertes Albumin
 x = natives Albumin

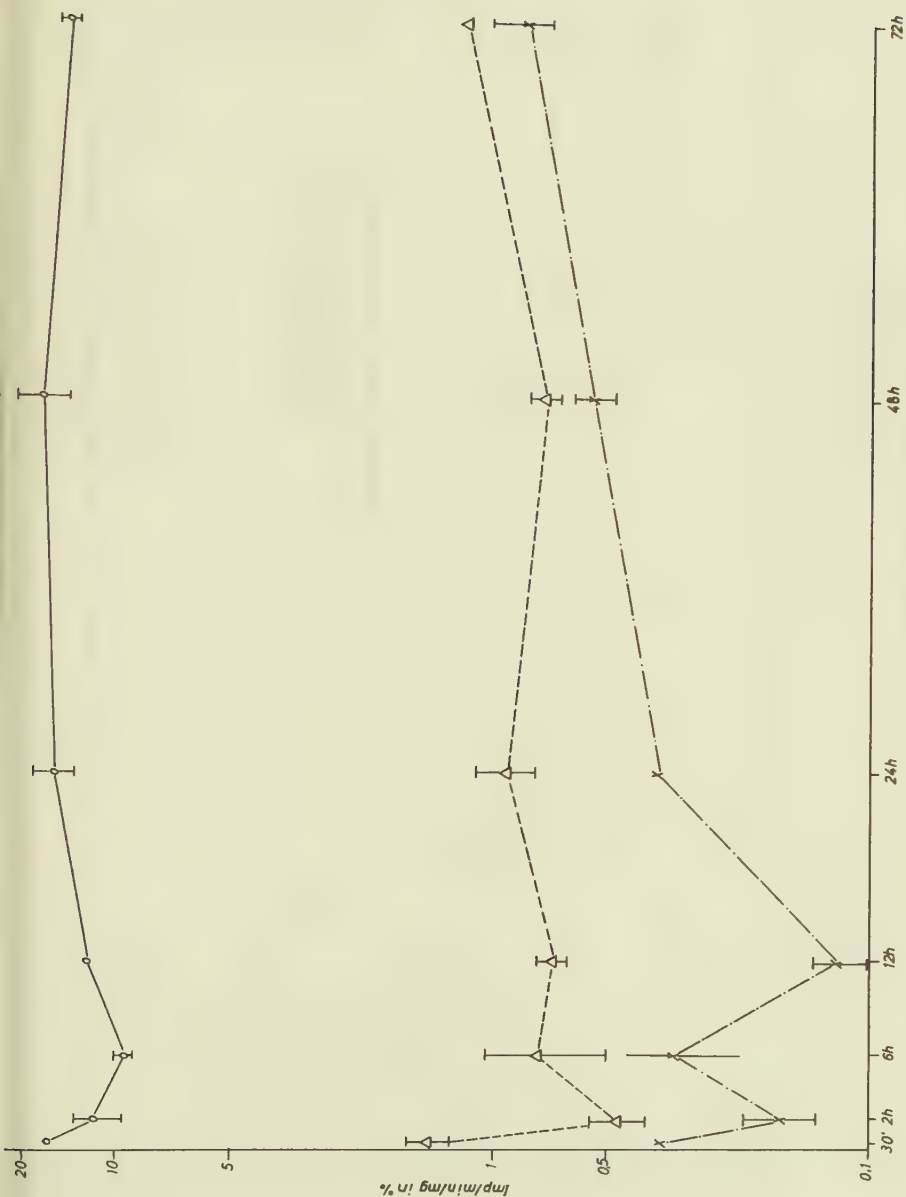
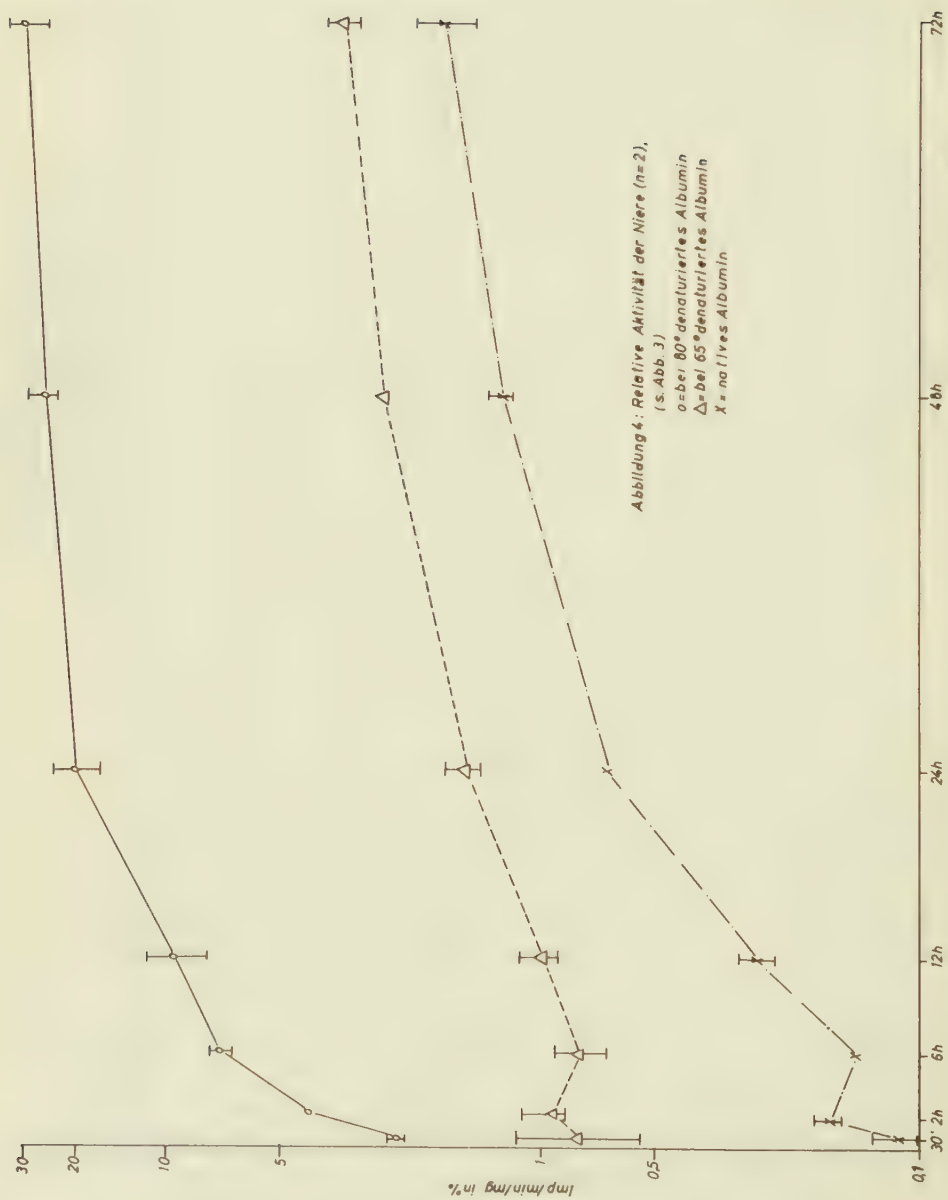


Abbildung 3: Relative Aktivität der Leber (n=2)
 Ordinate: Imp/min in % der Summe, die sich aus
 der Addition der Imp/min aller Organe ergibt.
 o=bei 80° denaturiertes Albumin
 Δ=bei 65° denaturiertes Albumin



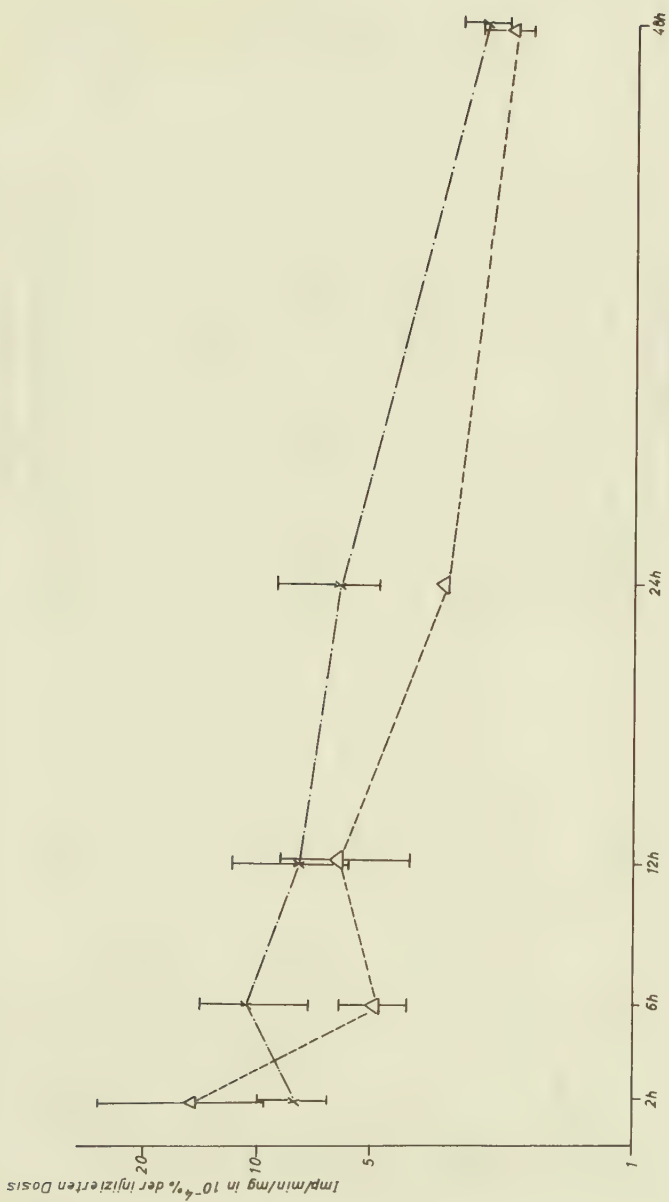




Abbildung 6: Spezifische Aktivität vom Herz (n=4)
 Δ = bei 65° denaturiertes Gammaglobulin
 X = natives Gammaglobulin

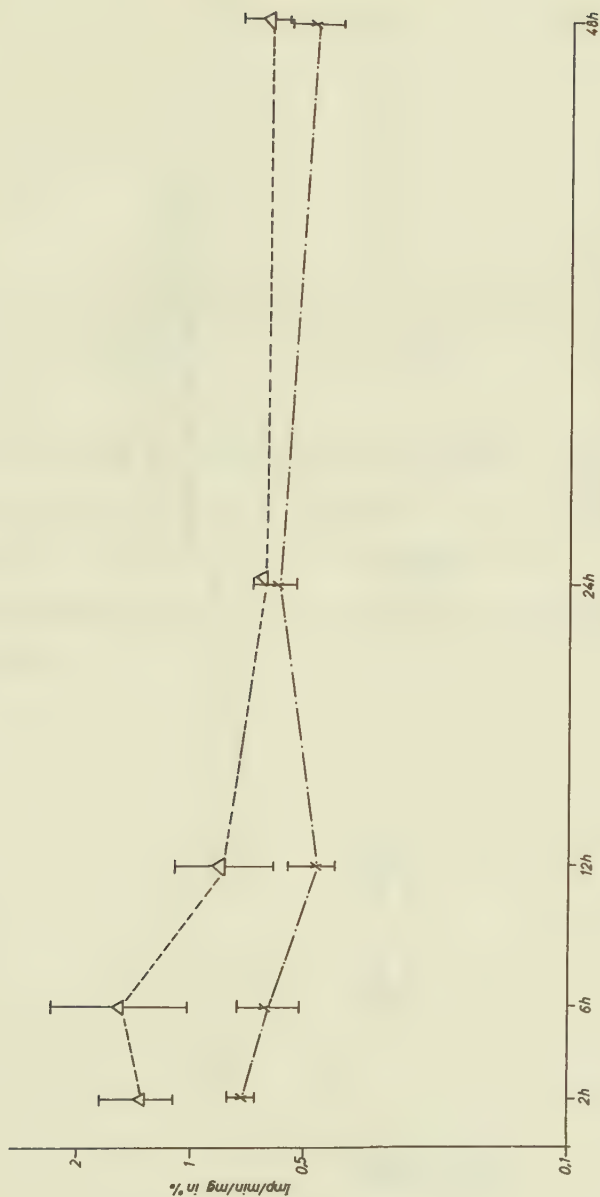


Abbildung 7: Relative Aktivität der Niere ($n = 4$)

Ordinate: s. Abb. 3

Δ = bei 65° denaturiertes Gammaglobulin

X = natives Gammaglobulin



Abbildung 8 Relative Aktivität vom Herz (n=4)
 Δ = bei 65° denaturiertes Gammaglobulin
 X = natives Gammaglobulin
 Ordinate s Abb 3

Herrn Prof. Dr. R. Duesberg möchte ich für die Ermöglichung der Durchführung meiner Doktorarbeit im Labor seiner Klinik meinen besonderen Dank aussprechen.

Herrn Privatdozent Dr. F. Gramlich gebührt mein Dank für die Anregung und Fragestellung dieser Arbeit, für das Interesse, das er an ihrem Fortgang nahm und für seine Hilfe, die hier dargelegten Anschauungen zu entwickeln.

Schließlich möchte ich auch Herrn Dr. Dr. H. E. Müller für seine technischen Hinweise danken.

LEBENS LAUF

Am 6. März 1941 wurde ich, Ulrich Dehn, als erster Sohn des Oberregierungsrates Martin Dehn und seiner Ehefrau Else, geb. Hofmeister, in Koblenz geboren. 1943 wurde mein Vater nach Oldenburg i. O. versetzt. 1947 trat ich in eine der dortigen Volksschulen ein und besuchte ab 1951 den math. -naturwissenschaftlichen Zweig des "Alten Gymnasium", das ich 1960 nach bestandener Reifeprüfung verließ.

Mein Medizinstudium begann ich in Tübingen; im März 1961 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im April 1963 die ärztliche Vorprüfung an der dortigen Universität ab.

Seit dem WS 1963/64 setzte ich mein Studium an der Universität Mainz fort und konnte am 25. Januar 1967 das medizinische Staatsexamen beenden.

